



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO EM
ENGENHARIA QUÍMICA



Efeito do campo elétrico na atividade da peroxidase e na cor do suco de melancia durante a pasteurização e armazenamento

Autor: Lucas Santarossa Alvim

Orientadora: Professora Ligia Damasceno Ferreira Marczak

Co-orientadora: Pesquisadora Doutora Naira Poerner Rodrigues

Porto Alegre, julho de 18

Agradecimentos

Às minhas orientadoras, Naira e Ligia, pela dedicação e por sempre se mostrarem dispostas a ajudar.

Aos bolsistas de iniciação científica, Andressa, Giorgio e Matheus, pelo auxílio nas atividades no laboratório.

Aos meus amigos e família, pelo apoio incondicional nos momentos de estresse.

A todos os professores e colegas da UFRGS, que contribuíram para o meu aprendizado e para que eu pudesse chegar a este estágio do curso.

Resumo

Processamentos térmicos são os métodos mais utilizados na indústria para aumentar a vida de prateleira dos alimentos. Os métodos convencionais de aquecimento, apesar de apresentarem eficiência na inativação de enzimas e na redução de atividade de microorganismos, causam efeitos adversos nas propriedades organolépticas e nutritivas dos alimentos. Desta forma, é necessário o estudo de novas tecnologias visando à redução destes efeitos. O aquecimento ôhmico se destaca entre essas alternativas, proporcionando, através da passagem de corrente elétrica pelo alimento e geração de energia por efeito Joule, um aquecimento mais homogêneo e de menor duração. O presente trabalho trata sobre a influência do aquecimento ôhmico com voltagem de 50 V na inativação de peroxidase (POD), na alteração de cor e na perda de carotenoides no suco de melancia da cultivar Manchester F1. Não foi detectada atividade de polifenoloxidase (PPO) e lipoxigenase (LOX). Foram avaliadas três temperaturas diferentes de aquecimento: 70, 80 e 90°C. A temperatura de 90°C apresentou melhores resultados, inativando cerca de 90% da POD em apenas 3 minutos. O processamento a 70°C se mostrou ineficiente na inativação de POD. No tratamento a 80°C, não houve diferença significativa entre aquecimento ôhmico a 50 V e o aquecimento convencional na inativação de POD, enquanto que a 90°C o aquecimento convencional se mostrou mais efetivo. Todos os tratamentos seguiram cinética de primeira ordem na inativação de POD. Com relação aos resultados da cor, não houve diferença significativa nos valores de croma e no valor final do ângulo Hue entre nenhum experimento. A diferença total de cor foi semelhante entre todas as amostras. Para os experimentos de armazenamento, foram realizados aquecimentos a 80 e 90°C, com tensões de 0 V (aquecimento convencional), 50 V e com tensão variável, diminuindo a duração da rampa de aquecimento e sem a utilização de banhos térmicos para o controle de temperatura. As amostras foram armazenadas em geladeira por 14 dias e aquelas que passaram por aquecimento a 90°C apresentaram redução de atividade de POD após o armazenamento. O processamento a 80°C apresentou regeneração de POD para as amostras processadas via aquecimento convencional e ôhmico a 50 V. Os valores de croma e de ângulo Hue das amostras aquecidas a 90°C não se alteraram durante o armazenamento, enquanto nas amostras processadas a 80°C estes valores aumentaram. A diferença total de cor durante o armazenamento foi maior para as amostras que passaram por aquecimento a 80°C. O tipo de tratamento utilizado não demonstrou ter influência na alteração de nenhum dos valores relacionados à análise de cor durante o armazenamento. Na análise de carotenoides foram analisadas as amostras processadas a 90°C, e o licopeno se mostrou o principal carotenoide presente no suco de melancia. A quantidade de licopeno detectada no primeiro dia de análise foi semelhante para a amostra *In natura* e as amostras processadas.

Palavras-chave: melancia, aquecimento ôhmico, tratamento térmico, peroxidase, inativação, cinética, cor, carotenoides, licopeno.

Sumário

Agradecimentos	ii
Resumo	iii
Sumário	iv
Lista de Figuras.....	vi
Lista de Tabelas.....	vii
Lista de Abreviaturas e Siglas	viii
Lista de Símbolos	ix
1 Introdução	1
2 Revisão Bibliográfica	2
2.1 Melancia	2
2.2 Enzimas	3
2.3 Métodos térmicos de inativação enzimática	4
2.3.1 Aquecimento Convencional	4
2.3.2 Aquecimento Ôhmico.....	5
2.4 Carotenoides.....	7
3 Materiais e Métodos	9
3.1 Preparo do suco de melancia	9
3.2 Caracterização físico-química do suco <i>in natura</i>	9
3.3 Processamento térmico do suco de melancia.....	9
3.4 Análise de atividade enzimática	12
3.4.1 Peroxidase.....	12
3.4.2 Polifenoloxidase.....	13
3.4.3 Lipoxigenase	13
3.5 Cinética de inativação	14
3.6 Análise de cor	15
3.7 Processamento térmico do suco e armazenamento refrigerado	17
3.8 Análise de carotenoides.....	18
3.9 Análise Estatística.....	19
4 Resultados e Discussão	20
4.1 Caracterização do suco	20
4.2 Atividade de PPO e LOX	20
4.3 Efeito do tratamento térmico na atividade da peroxidase (POD).....	20
4.4 Efeito do tratamento térmico na cor	23

4.5	Monitoramento da atividade da peroxidase durante o armazenamento.....	27
4.6	Monitoramento da cor durante o armazenamento	29
4.7	Monitoramento do teor de carotenoides durante o armazenamento	31
5	Conclusões e Sugestões para Trabalhos Futuros	34
6	Referências.....	35

Lista de Figuras

Figura 2.1: Distribuição da produção mundial de melancia. Fonte: FAOSTAT, 2016.	2
Figura 2.2: Princípio de funcionamento do aquecimento ôhmico (SAKR; LIU, 2014).	6
Figura 2.3: Estrutura química do <i>all-trans</i> -licopeno.	7
Figura 3.1: Equipamento de aquecimento ôhmico utilizado nos experimentos. FONTE: BAGATINI, 2018.	10
Figura 3.2: Posição dos termopares e dos eletrodos no processamento térmico. Adaptado de SARKIS, 2011.	10
Figura 3.3: Variação de absorbância logo após a adição do substrato em uma amostra processada a 80 °C via AO 50 V.	13
Figura 3.4: Diagrama tridimensional do sistema CIELAB. FONTE: (SANTANNA <i>et al.</i> , 2013)	15
Figura 4.1: Perfis de aquecimento dos processamentos térmicos via AC e AO 50 V.	21
Figura 4.2: Perfil de inativação de POD com o tempo para tratamento térmico avaliado.	22
Figura 4.3: Variação de L^* , a^* e b^* ao longo do tempo de processamento nas temperaturas de: a) 70°C; b) 80°C; c) 90°C.	24
Figura 4.4: Variação do ângulo Hue ao longo do tempo de processamento nas temperaturas de: a) 70°C; b) 80°C; c) 90°C.	25
Figura 4.5: Variação de croma ao longo do tempo de processamento nas temperaturas de: a) 70°C; b) 80°C; c) 90°C.	26
Figura 4.6: Perfis de aquecimento durante o tratamento térmico do suco de melancia para posterior armazenamento.	27
Figura 4.7: Perfil de tensão elétrica dos experimentos que utilizaram tensão variável.	28
Figura 4.8: Atividade residual de POD durante o armazenamento refrigerado do suco de melancia processado a 90°C	28
Figura 4.9: Atividade residual de POD no suco processado a 80°C durante o armazenamento.	29
Figura 4.10: Espectro de absorção do extrato de carotenoides das amostras <i>In natura</i> e processadas.	31

Lista de Tabelas

Tabela 3.1: Temperaturas utilizadas no banho 2 em cada experimento realizado.	11
Tabela 3.2: Tempos em que foram retiradas alíquotas em cada experimento.	11
Tabela 3.3: Modelos avaliados de cinética de inativação	14
Tabela 3.4: Níveis de percepção humana da alteração de cor de acordo com valores de diferença total de cor (ΔE).	17
Tabela 3.5: Dias em que foram realizadas as análises.	18
Tabela 4.1: Parâmetros do suco de melancia <i>In natura</i>	20
Tabela 4.2: Parâmetros calculados para a cinética de inativação.	22
Tabela 4.3: Valor da constante de velocidade, D e t_{12} para cada tratamento térmico.	23
Tabela 4.4: Valores de diferença total de cor (ΔE) e nível de percepção humana da alteração de cor com relação ao suco <i>in natura</i> e ao tempo 0 ao final de cada processamento.	27
Tabela 4.5: Valores dos parâmetros de cor durante o armazenamento para cada tratamento.	30
Tabela 4.6: Valores de croma e de ângulo Hue durante o armazenamento.	30
Tabela 4.7: Diferença total de cor e correspondentes nível de percepção para cada tratamento após o armazenamento.	31
Tabela 4.8: Teor de carotenoides totais durante o armazenamento do suco de melancia pasteurizado por diferentes tratamentos.	32

Lista de Abreviaturas e Siglas

AC – Aquecimento Convencional

AO – Aquecimento Ôhmico

AOVV – Aquecimento Ôhmico com Voltagem Variável

HIPEF – *High Intensity Pulsed Electric Field*

HTLT – *High Temperature Short Time*

HTST – *High Temperature Long Time*

LATEPA – Laboratório de Tecnologia e Processamento de Alimentos

LOX – Lipoxigenase

LTLT – *Low Temperature Long Time*

LTST – *Low Temperature Short Time*

POD – Peroxidase

PPO – Polifenoloxidase

SEM – *Standard Error of the Mean*

UAE – Unidade de atividade enzimática

Lista de Símbolos

$\alpha_{experimental}$ atividade de peroxidase residual experimental

$\alpha_{prevista}$ atividade de peroxidase residual prevista

σ condutividade elétrica ($S.m^{-1}$)

χ^2 qui-quadrado

A atividade enzimática

A_0 atividade enzimática inicial

A/A_0 atividade enzimática residual

a^* parâmetro de cor, entre o verde e o vermelho

b^* parâmetro de cor, entre o azul e o amarelo

C^*_{ab} croma

D tempo de redução decimal

E intensidade do campo elétrico

ΔE^* diferença total de cor

h_{ab} ângulo hue

k constante cinética de degradação

L^* luminosidade

m massa (g)

n número de observações

p número de parâmetros do modelo cinético avaliado

R^2 coeficiente de determinação

x Efeito do campo elétrico na atividade da peroxidase e na cor do suco de melancia durante a pasteurização e armazenamento

t tempo (s) ou (min)

T temperatura (°C)

$t_{1/2}$ tempo de meia vida

u''' taxa volumétrica de geração de calor

1 Introdução

O suco de melancia é uma bebida apreciada em várias partes do mundo, sendo que o interesse em seu consumo vem crescendo nos últimos anos. Com o elevado valor nutritivo e benefícios à saúde humana apresentados pelo suco, há interesse em sua maior comercialização. Há, no entanto, empecilhos para que isso aconteça, pois este alimento apresenta condições ideais para elevada degradação enzimática e atividade microbiana, sendo necessário o processamento do suco antes de sua comercialização em grande escala. Existe, então, a necessidade de se encontrar um tipo de processamento ideal do suco, de modo que sua vida de prateleira seja maior e, conseqüentemente, sua comercialização possa ser incrementada.

Os processamentos térmicos convencionais, com seus variados binômios tempo-temperatura, são os mais utilizados na indústria e apresentam ótimos resultados na inativação de enzimas e diminuição de atividade microbiana. No entanto, estes métodos causam alterações indesejadas nas propriedades dos alimentos; no suco de melancia matéria-prima do presente trabalho, ocorre a alteração de cor e de outras propriedades organolépticas, além da perda de valor nutritivo, são conseqüências importantes do processamento. O aquecimento ôhmico é uma das alternativas que vêm sendo estudadas para substituir os métodos convencionais e se baseia na passagem de corrente elétrica pelo alimento, propiciando, pelo princípio do efeito Joule, um aquecimento mais homogêneo e, conseqüentemente, de menor duração. Desta forma, o aquecimento ôhmico se apresenta como uma possível forma de reduzir as alterações indesejadas nas propriedades nutritivas e organolépticas do suco.

Este trabalho tem como objetivo avaliar a influência do aquecimento ôhmico na inativação da peroxidase e nos parâmetros de cor do suco de melancia pasteurizado a 70, 80 e 90°C. A atividade da peroxidase também foi monitorada no suco de melancia durante o armazenamento refrigerado bem como a cor e o teor de carotenoides. Para isso, foi monitorada a inativação da enzima peroxidase a diferentes temperaturas e tensões, modelando-se a cinética de inativação para cada caso. Também foi estudada alteração de cor durante os diferentes processamentos e após 14 dias de armazenamento. A influência de cada tratamento na atividade de peroxidase e na perda de carotenoides também foi monitorada durante o armazenamento. Para efeitos de comparação, também foi avaliada a influência do uso de aquecimento convencional no tratamento térmico de suco de melancia.

2 Revisão Bibliográfica

2.1 Melancia

Melancia (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai) é o nome dado a uma planta pertencente à família *Cucurbitaceae* e seu fruto. A planta é caracterizada por ser anual, pelo seu crescimento rasteiro e por possuir ramos que podem alcançar até 5 metros de comprimento. Os frutos, por sua vez, se caracterizam pelo seu sabor adocicado, formato redondo, oval ou alongado, com casca listrada em vários tons de verde e polpa geralmente vermelha ou rosa, apesar de existirem variedades cuja cor da polpa é amarela, verde ou branca (KYRIACOU, M.C. *et al.*, 2018).

A melancia é originária da África Central, onde é cultivada há cerca de 4000 anos, perto da região do deserto do Kalahari, e de lá foi introduzida à Índia, China, sudeste asiático até, posteriormente, chegar às Américas em meados do século XVI. Atualmente, com 4,7% das terras cultivadas e 7,8% da produção mundial de vegetais, a plantação de melancia corresponde a segunda maior área utilizada para cultivo e produção mundial de frutas anuais, atrás apenas do tomate em ambos os quesitos. A produção de melancia é dominada pela Ásia, que detém mais de 84% da produção global da fruta. A China, com mais de 66% da produção mundial, é o país líder neste quesito, seguida por Turquia (3,4%), Irã (3,26%) e Brasil (1,8%) (FAOSTAT, 2016). A Figura 2.1 apresenta um gráfico informando a distribuição da produção mundial de melancia por continente.

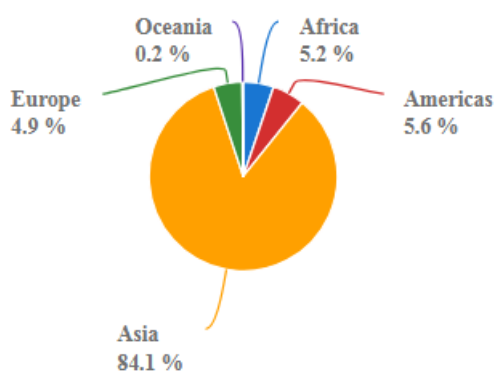


Figura 2.1: Distribuição da produção mundial de melancia. Fonte: FAOSTAT, 2016.

A cultivar de melancia mais plantada no Brasil é a Crimson Sweet, que é de origem americana e representa mais de 90% do fornecimento ao mercado consumidor. A indústria de sementes tem, nos últimos anos, dedicado-se ao desenvolvimento de híbridos de melancia. Os híbridos são resultados do cruzamento de duas espécies diferentes e apresentam sementes mais caras, mas geralmente possuem maior precocidade, produtividade e uniformidade. A Crimson Sweet se caracteriza por possuir, principalmente, híbridos diploides e triploides, sendo que os primeiros apresentam sementes, sabor mais adocicado e polpa mais avermelhada (EMBRAPA, 2007).

Por apresentar grande quantidade de ácidos fenólicos e carotenoides, especialmente o licopeno, a melancia apresenta alta capacidade antioxidante. Segundo Bowen *et al.* (2002), o consumo diário de ao menos 4 mg de licopeno pode reduzir o risco de câncer de próstata. Além disso, estudos apontam que o consumo de licopeno pode diminuir o risco de doenças cardiovasculares (HAKO, A. E. *et al.*, 2004; SESSO, H. D. *et al.*, 2004). Por conta disso e pela presença de minerais (K, Mg, Ca e Fe) e vitaminas (A, B, C e E) na fruta, o consumo de melancia apresenta grandes benefícios à saúde humana, atraindo consumidores. Apesar dessas vantagens, o suco de melancia apresenta grandes empecilhos para o seu sucesso comercial devido à sua rápida deterioração, causada pelo seu elevado pH (em torno de 6,0) e alta atividade de água, propiciando ótimas condições para o crescimento microbiano e para a ação enzimática (Oberoi & Sogi, 2015).

2.2 Enzimas

As principais enzimas existentes na melancia e que são responsáveis pelas alterações indesejadas que ocorrem no suco ao longo do tempo, como perda de cor, viscosidade e sabor, são a peroxidase (POD) e a lipoxigenase (LOX). Outros estudos apontam a presença de polifenoloxidase (PPO) como sendo importante para a degradação deste alimento (LIU *et al.*, 2012).

A POD (EC 1.11.1) é uma enzima oxirredutase que se encontra em praticamente todos os tecidos vegetais e frutas, variando apenas sua concentração. Sendo uma enzima com elevada termorresistência, ela geralmente é utilizada como indicadora do adequado tratamento térmico dos alimentos. A grande limitação desta estratégia, no entanto, é que muitas vezes é necessário um tratamento térmico prolongado, com o alimento podendo passar vários minutos submetido a temperaturas na faixa de 80 a 100°C, causando deterioração de suas propriedades organolépticas. Estudos demonstram que a POD é uma das enzimas responsáveis pelo escurecimento e pela destruição de pigmentos de determinados alimentos (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2008; CIOU, J.Y. *et al.*, 2011). A atividade da POD diminui conforme o pH é reduzido na faixa de 3,0-7,0, e sua regeneração pode ocorrer com pH na faixa de 5,5-8,0 (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2008).

As LOXs (EC 1.13.12.11) são enzimas da classe das oxirredutases que catalisam oxidações lipídicas e estão presentes nos tecidos vegetais e em alguns tecidos animais. São catalisadoras de reações que causam a liberação de compostos responsáveis pelo aroma e sabor de alguns alimentos. No caso da melancia, por exemplo, auxiliam na formação de aldeídos voláteis e alguns álcoois como o cis-3-hexanol, que contribuem para o aroma típico da fruta (LEONE *et al.*, 2006). A formação exagerada de tais compostos, por outro lado, causa alterações indesejadas no sabor da fruta. Além disso, segundo Robinson *et al.* (1995), as LOXs são responsáveis por reações com carotenoides, tendo como consequência a degradação da cor e a perda de qualidades nutricionais importantes dos alimentos. O pH ótimo para a atividade da LOX é altamente variável e depende da matriz alimentar e das isoformas presentes, sendo, por exemplo, aproximadamente 6,0 para maçãs e 9,0 para as sementes de grãos de soja (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2008).

Outra enzima de extrema importância na química de alimentos, a PPO está presente em microrganismos, plantas e animais, inclusive humanos, onde ela é responsável pela pigmentação da pele. O escurecimento enzimático de vários

alimentos tem, muitas vezes, a PPO como uma das principais responsáveis, catalisando a oxidação de polifenóis a suas respectivas quinonas, que são posteriormente polimerizadas com outras quinonas ou compostos fenólicos, originando, assim, pigmentos escuros (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2008). O pH ótimo para atividade enzimática da PPO varia na faixa de 4,0 a 7,0, sendo que há grande discrepância entre os valores publicados até mesmo quando a mesma matriz é analisada (NICOLAS *et al.*, 2003).

2.3 Métodos térmicos de inativação enzimática

Devido à elevada atividade enzimática e por ser um meio propício para a proliferação de microrganismos, causando sua deterioração, a maioria dos alimentos deve passar por processamentos que visem à redução ou à eliminação completa desses problemas, de modo que suas vidas de prateleira sejam maiores. Dentre os diversos métodos de inativação os métodos térmicos são os mais tradicionais e mais utilizados, e destacam-se pela sua eficiência na inativação enzimática e na redução da atividade de microrganismos. As altas temperaturas e o tempo de aquecimento utilizados nos métodos térmicos, no entanto, causam efeitos não desejáveis nos alimentos, alterando suas propriedades organolépticas e valor nutritivo, fazendo-se necessária a utilização de métodos que reduzam estas complicações. Dentre as novas tecnologias que vêm sendo estudadas com este intuito, destaca-se o aquecimento ôhmico.

2.3.1 Aquecimento Convencional

Os métodos de aquecimento convencionais são os mais utilizados na indústria de alimentos e já vêm sendo colocados em prática há muitos anos. Os processamentos térmicos mais tradicionais são a pasteurização, que tem esse nome por conta de seu criador, o cientista francês Louis Pasteur, e a esterilização, que utiliza temperaturas maiores. A pasteurização se baseia em aquecer um alimento em diferentes binômios tempo-temperatura, seguido pelo seu resfriamento imediato. Existem diferentes tipos de pasteurização, nomeados com base no binômio temperatura-tempo: HTLT (*High Temperature Long Time* - Temperatura Alta, Tempo Longo); HTST (*High Temperature Short Time* - Temperatura Alta, Tempo Curto); LTLT (*Low Temperature Long Time* - Temperatura Baixa, Tempo Longo); LTST (*Low Temperature Short Time* - Temperatura Baixa, Tempo Curto) (RAJAURIA; TIWARI, 2018).

A pasteurização HTLT consiste na utilização de temperaturas na faixa de 80 a 100°C por um período de tempo maior que 30 s; é o processamento mais utilizado em sucos de frutas, sendo que é indicado para sucos com pH > 4,5. Dependendo da matriz, este tratamento pode afetar positivamente alguns compostos como os flavonoides e é muito eficiente na inativação enzimática, mas proporciona maiores alterações nas propriedades organolépticas e pode afetar negativamente compostos antioxidantes dos alimentos (RAJAURIA; TIWARI, 2018; PETRUZZI *et al.*, 2017).

O método HTST utiliza temperaturas acima de 80°C por tempos menores que 30 s, e visa à redução das alterações nas propriedades nutricionais e organolépticas do alimento. Mesmo com a curta exposição ao calor, este tratamento reduz a atividade de enzimas como a POD, PPO e LOX em mais de 90% (RAJAURIA; TIWARI, 2018; AGUILAR-ROSAS *et al.*, 2013; HUANG *et al.*, 2013). Além disso, estudos reportam que este tipo de processamento pode

aumentar a quantidade de fenólicos totais no néctar de damasco; e também melhorar os valores nutricionais no suco de laranja fermentado (CERRILLO *et al.*, 2015; HUANG *et al.*, 2013). Por outro lado, como efeito da alta temperatura, a pasteurização HTST também pode causar a perda de nutrientes importantes nos alimentos (MENA *et al.*, 2012).

O processamento LTLT é realizado a temperaturas menores que 80°C por tempos maiores que 30 s. Esta técnica auxilia na redução da alteração indesejada de cor em alguns alimentos, além de reter compostos de alto valor nutritivo (SAIKIA; MAHNOT; MAHANTA, 2015; SAEEDUDDIN *et al.*, 2015; SINCHAIPANIT; KERR; CHAMCHAN, 2013). Saeeduddin *et al.* (2015) demonstrou que o método LTLT reduz consideravelmente a atividade da POD e da PPO no suco de pera, enquanto Chaikham (2015) e Keenan *et al.* (2012) demonstraram que este tipo de pasteurização inativou completamente a PPO em outros sucos de frutas, mas, apesar das temperaturas mais baixas, assim como os outros processamentos térmicos, o processo LTLT apresentou problemas como alteração indesejada de cor e perda de valor nutricional nestes mesmo sucos.

A pasteurização do tipo LTST utiliza temperaturas menores que 80°C e tempos menores que 30 s. Apresenta vantagens como a preservação de qualidades sensoriais do suco misturado de maçã com oxicoco (CAMINITI *et al.*, 2011) e aumento na quantidade de fenólicos totais no suco de cereja (QUEIRÓS *et al.*, 2014). No entanto, apesar do curto tempo e relativamente baixa temperatura, este tratamento também pode ocasionar perda de propriedades organolépticas e de valor nutricional de sucos de frutas (PETRUZZI *et al.*, 2017).

2.3.2 Aquecimento Ôhmico

A tecnologia de aquecimento ôhmico tem como princípio a passagem de corrente elétrica alternada pelo alimento, o que, devido à resistência elétrica do mesmo, resulta na geração interna de calor pelo efeito Joule (RAMASWAMY *et al.*, 2014). Este método de processamento foi utilizado nos Estados Unidos para a pasteurização do leite durante a década de 30, mas, com o alto custo da energia elétrica e o surgimento de outros tipos de processamento, foi posteriormente relegado a processos de descongelamento e branqueamento de alimentos. A partir da década de 80, porém, houve um aumento no interesse pela utilização de tecnologias de aquecimento ôhmico, numa tentativa de reduzir a perda de qualidade que resultava dos métodos convencionais de pasteurização dos alimentos (ALWIS; FRYER, 1990; RAMASWAMY *et al.*, 2014; JAEGER *et al.*, 2016). Atualmente, esta tecnologia emergente é utilizada em muitos países, principalmente no processamento de pedaços de frutas, e o número de pesquisas avaliando seus efeitos em alimentos vem crescendo nos últimos anos.

O princípio de funcionamento dos aquecedores ôhmicos é ilustrado na Figura 2.2. O alimento a ser processado é inserido numa célula entre dois eletrodos, que fazem com que a corrente elétrica alternada gerada por uma fonte de alimentação seja aplicada no alimento de forma homogênea. Desta forma, este método resolve o problema de superfícies quentes que é gerado pelos processamentos convencionais, e, ao gerar calor internamente, garante um gradiente de temperatura mínimo no alimento (SAKR; LIU, 2014).

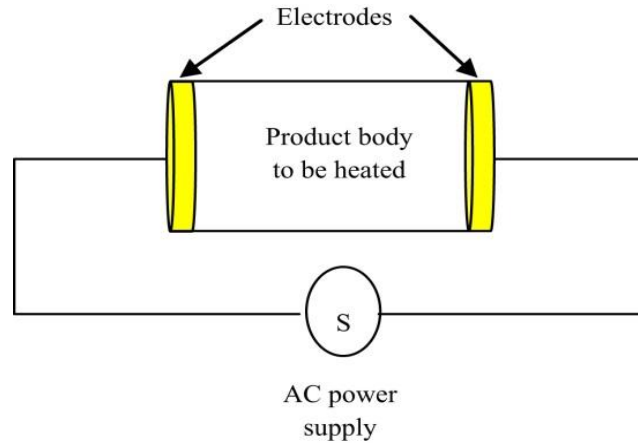


Figura 2.2: Princípio de funcionamento do aquecimento ôhmico (SAKR; LIU, 2014).

A taxa de geração de calor de um material sob aquecimento ôhmico se dá por:

$$u''' = E^2 \sigma \quad (2.1)$$

e

$$E = \frac{V}{l} \quad (2.2)$$

onde u''' é a taxa volumétrica de geração de calor do material, E é a intensidade do campo elétrico, σ é a condutividade elétrica do material, V é a tensão gerada pela fonte de alimentação e l é a distância entre os eletrodos, a equação (2.1) pode ser reescrita como:

$$u''' = \left(\frac{V}{l}\right)^2 \sigma \quad (2.3)$$

As equações 2.2 e 2.3 mostram que, quanto maior a distância entre os eletrodos, menor a intensidade do campo elétrico e, logo, menor a taxa volumétrica de geração de calor. Além disso, é possível verificar pela equação 2.3 que a condutividade elétrica do material exerce influência direta na geração de calor, de modo que, quanto mais condutivo for o material submetido ao aquecimento ôhmico, maior será o calor gerado por unidade de volume.

Conforme discutido por Icier, Yildiz e Baysal (2006) e Castro *et al.* (2004), a utilização de aquecimento ôhmico apresentou vantagens na inativação de enzimas como a PPO, LOX e POD, atingindo a mesma inativação em tempos menores se comparado com a utilização de aquecimento convencional. Além disso, a aplicação de campo elétrico demonstrou menor perda de cor e de compostos de valor nutricional, como carotenoides e compostos fenólicos em alguns alimentos. Castro *et al.* (2004) formularam a hipótese de que o campo

elétrico pode interagir com o grupo metálico prostético presente em enzimas como PPO e LOX, resultando num aumento na inativação durante o aquecimento ôhmico. Segundo Ramaswamy *et al.* (2014), o efeito elétrico causado pela aplicação de campo elétrico influencia de forma diferente a cinética de degradação de cada enzima, não havendo um comportamento geral, sendo que a matriz na qual a enzima está sendo estudada afeta a taxa de degradação da mesma, de modo que a mesma enzima pode apresentar comportamentos diferentes dependendo da matriz.

2.4 Carotenoides

Os carotenoides são micronutrientes que possuem ampla distribuição na natureza, diferentes estruturas químicas e funções. Apesar dos níveis muito baixos em que estão presentes nos alimentos, estes compostos são de extrema importância para o valor nutritivo dos alimentos, sendo substâncias bioativas benéficas à saúde humana. Além disso, são pigmentos naturais responsáveis pelas cores de amarelo a laranja ou vermelho de muitas frutas (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008). Dentre os carotenoides mais pesquisados por seu envolvimento na saúde humana se encontram o licopeno e o β -caroteno.

O licopeno é o principal carotenoide presente na melancia, representando de 70 a 90% dos carotenoides totais da fruta, e é o responsável pela coloração vermelha da sua polpa. Nas dietas ocidentais, o tomate representa a maior fonte de licopeno, mas melancias apresentaram maiores teores de licopeno por massa de alimento e biodisponibilidade semelhante a de tomates frescos. Além de reduzir o risco de doenças vasculares, um maior consumo diário de licopeno pode ajudar a proteger a pele de danos por luz ultravioleta (UV). A estrutura do licopeno consiste em um hidrocarboneto tetraterpenoide contendo onze ligações duplas conjugadas (PERKINS-VEAZIE *et al.*, 2006; RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008). A Figura 2.3 mostra a estrutura do *trans*-licopeno, configuração encontrada nas frutas *in natura*.

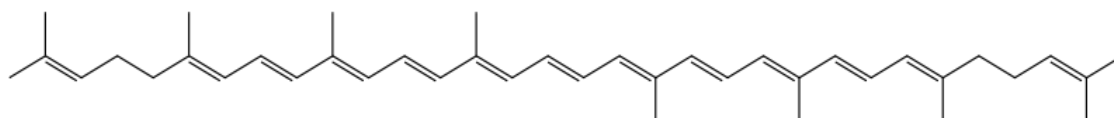


Figura 2.3: Estrutura química do *all-trans*-licopeno.

Estudos comprovam que a biossíntese de carotenoides continua após a colheita, desde que o alimento seja mantido intacto e as enzimas responsáveis pela síntese sejam preservadas. A principal causa de perdas ou destruição de carotenoides durante o processamento ou estocagem é a oxidação, seja ela enzimática ou não, sendo que o corte e a trituração dos alimentos liberam enzimas que catalisam a oxidação e aumentam a exposição dos carotenoides ao oxigênio. As condições ideais de processamento e estocagem variam para cada alimento, mas é comprovado que, quanto maior o tempo e a temperatura de processamento, menor a retenção de carotenoides. Apesar disso, foi relatada uma maior biodisponibilidade de carotenoides em tomates processados

termicamente do que em tomates *in natura*, deixando claro que é necessário otimizar o processamento de modo que se minimize a perda de carotenoides e se maximize a biodisponibilidade dos mesmos. Alternativas para diminuir a perda dos carotenoides envolvem o acondicionamento a vácuo, a proteção contra a luz e o congelamento dos alimentos, seguido por descongelamento rápido (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008).

3 Materiais e Métodos

Todos os experimentos foram realizados no Laboratório de Tecnologia e Processamento de Alimento (LATEPA) da UFRGS.

3.1 Preparo do suco de melancia

Quatro melancias da cultivar Manchester F1, híbrido diploide da Crimson Sweet, de aproximadamente 9 Kg foram adquiridas no comércio local em Porto Alegre (RS). Elas foram levadas ao LATEPA, onde foram lavadas com água corrente, cortadas em fatias e processadas em um juicer (*Philips Walita*, modelo RI1870, Brasil). Visando a redução da alteração de cor na fruta, todo o procedimento foi feito de forma que o alimento ficasse protegido da luz. Para fins de maior rendimento e padronização do produto, o resíduo produzido pelo equipamento foi filtrado com coadores. Após a filtração, todo o suco foi transferido para um recipiente, homogeneizado e alíquotas de aproximadamente 260 mL foram transferidas para embalagens de polietileno e seladas a vácuo (*Sulpack*, modelo SVC 200, Brasil). Depois disso, as amostras foram armazenadas em um freezer sob a temperatura de -38°C (*Terroni*, modelo FV 120, Brasil) e protegidas da luz.

3.2 Caracterização físico-química do suco *in natura*

O suco foi caracterizado para possibilitar comparações com trabalhos já realizados. Os parâmetros medidos foram o teor de umidade, teor de sólidos totais, pH, condutividade e cor.

O teor de umidade foi medido transferindo-se 10 mL de suco para uma cápsula de metal previamente pesada, que posteriormente foi colocada em uma estufa a 105°C durante aproximadamente 18 horas. Após este tempo, a amostra foi colocada em um dessecador por 30 minutos e logo após foi pesada. O teor de umidade foi calculado utilizando as massas da cápsula com o suco antes e depois da secagem na estufa. O teor de sólidos solúveis foi determinado utilizando-se um refratômetro portátil modelo SZJ-A.

O pH do suco foi medido em pHmetro (*Digimed*, modelo DM-22, Brasil), enquanto a condutividade elétrica foi determinada em um condutivímetro (*Digimed*, modelo DM-3P, Brasil), ambos utilizando a temperatura de referência de 20°C. Os parâmetros de cor foram avaliados em colorímetro (*HunterLab*, modelo ColorQuest XE).

3.3 Processamento térmico do suco de melancia

As amostras foram pasteurizadas em um equipamento de aquecimento ôhmico formado por um estabilizador (*Forceline*, modelo EV 1000 T/2-2, Brasil) que utiliza corrente alternada numa frequência de 60 Hz, um variador de tensão com ajuste manual de 0 a 240 V (*Sociedade Técnica Paulista LTDA*, modelo Varivolt, Brasil), um disjuntor (*Siemens*, Brasil) e um sistema de aquisição de dados (*Novus*, modelo Field logger, Brasil). Além disso, para fins de controle de temperatura, foram utilizados dois banhos termostáticos, identificados como banho 1 (*Lauda*, modelo ALPHA A 6) e banho 2 (*Lauda*, modelo ALPHA RA 8). Uma fotografia do *layout* do equipamento é demonstrada na Figura 3.1. A célula ôhmica tem o formato de um béquero de 300 mL encamisado, com duas aberturas para a conexão de mangueiras, e sua tampa possui espaços para a inserção de termopares e eletrodos, além de um furo central para a retirada de amostras.

Foram utilizados dois eletrodos de titânio, que possuem formato curvado para melhor se encaixarem na célula, sendo que as distâncias máxima e mínima entre os eletrodos foram de, respectivamente, 6,7 e 5,7 cm. O uso do aquecimento ôhmico foi realizado somente na tensão de 50 V e, considerando a distância dos eletrodos, o campo elétrico aplicado variou entre 7,5 e 8,8 V/cm. Os dois termopares utilizados foram posicionados da forma apresentada na Figura 3.2.



Figura 3.1: Equipamento de aquecimento ôhmico utilizado nos experimentos.
FONTE: BAGATINI, 2018.

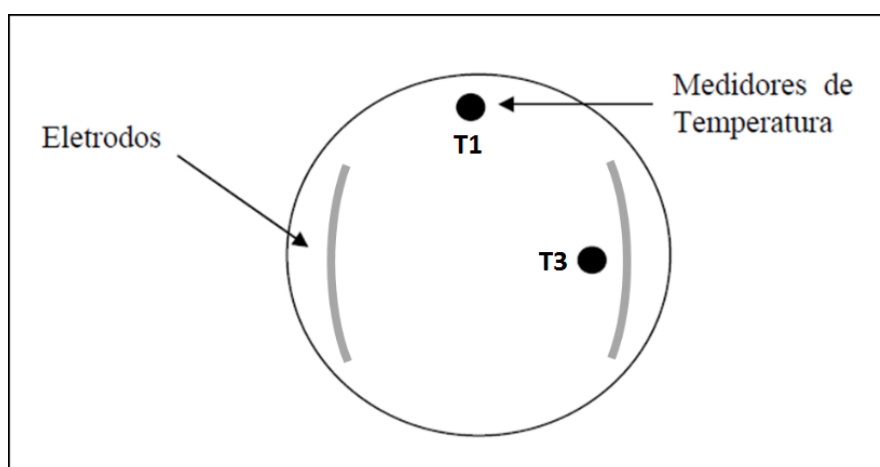


Figura 3.2: Posição dos termopares e dos eletrodos no processamento térmico. Adaptado de SARKIS, 2011.

Antes de cada experimento, as amostras foram retiradas do freezer e descongeladas em banho com água à temperatura ambiente por aproximadamente 1 hora. Visando o descongelamento mais rápido, a água do banho era trocada com frequência. As amostras ficaram protegidas da luz durante este procedimento, de modo que não houvesse alteração de sua cor. Com a amostra descongelada e à temperatura ambiente, o suco foi transferido para a célula ôhmica, que, por sua vez, foi colocada sobre um agitador magnético (IKA, modelo C-MAG HS 10, Alemanha), de modo a assegurar a homogeneização do suco. Antes do aquecimento ser iniciado, foi retirada uma alíquota de 12 mL do suco *in natura* para as análises de cor e de atividade enzimática.

Com a célula ôhmica tampada, com eletrodos e termopares posicionados de acordo com a Figura 3.2, e conectores fixados nas hastes dos eletrodos, de modo a permitir a passagem de corrente elétrica no suco, o aquecimento foi iniciado. Para isto, foram abertas as válvulas de entrada e saída do banho 1 (mantido a 98°C) e a válvula de *by-pass* foi fechada, garantindo que todo o fluxo de água passasse pela célula ôhmica. As válvulas foram mantidas nesta posição até que a temperatura do suco de melancia ficasse aproximadamente 2 graus abaixo da temperatura desejada para o experimento. Neste momento, foram fechadas as válvulas de entrada e saída do banho 1, enquanto que a válvula de *by-pass* foi aberta, garantindo o refluxo total da água para o banho. Em seguida, foi fechada a válvula de *by-pass* e foram abertas as válvulas de entrada e saída do banho 2. O banho 2 era mantido a uma temperatura diferente para cada experimento, sendo que os valores de temperatura utilizados estão mostrados na Tabela 3.1. No tratamento térmico via aquecimento ôhmico, a tensão foi elevada até 50 V utilizando-se o variador de tensão no momento em que a amostra atingisse a temperatura desejada, enquanto que no tratamento térmico via aquecimento convencional, a tensão permanecia nula. O tempo em que a temperatura desejada foi alcançada foi chamado de “tempo 0”. O tempo 0 foi igual a 4, 6 e 11 minutos para os processamentos a 70, 80 e 90°C, respectivamente.

Tabela 3.1: Temperaturas utilizadas no banho 2 em cada experimento realizado.

Tipo de aquecimento	T do experimento (°C)	T do banho 2 (°C)
Convencional	70 ± 1	70
Ôhmico (50 V)	70 ± 2	42 ± 2
Convencional	80 ± 1	80
Ôhmico (50 V)	80 ± 1	52 ± 1
Convencional	90 ± 1	90
Ôhmico (50 V)	90 ± 1	61.5 ± 1,0

As amostras foram processadas até que atingissem inativação enzimática de aproximadamente 90%. Desta forma, excetuando-se o tempo 0 e as amostras *in natura*, os tempos de retiradas de alíquotas para análises foram diferentes para cada temperatura de experimento, e estão explicitados na Tabela 3.2. As alíquotas eram de 12 mL cada, sendo que eram transferidas para tubos Falcon de 15 mL e imediatamente colocadas em banho de gelo. Metade de cada alíquota foi utilizada para análise de cor e a outra metade foi utilizada para análise da atividade enzimática. Todos os experimentos de pasteurização do suco foram realizados em duplicata.

Tabela 3.2: Tempos em que foram retiradas alíquotas em cada experimento.

T do experimento (°C)	Tempos de retirada de alíquota
70	0, 20, 40, 60, 80, 100, 120 min
80	0, 5, 10, 15, 20, 30, 50 min
90	0, 30, 60, 90, 120, 150, 180 s

3.4 Análise de atividade enzimática

3.4.1 Peroxidase

A análise da atividade da POD foi feita utilizando-se uma adaptação do método utilizado por Brochier, Mercali e Marczak (2016). Os extratos enzimáticos foram preparados transferindo-se 3 mL do suco para um tubo Falcon de 15 mL, seguido da adição de 7 mL de tampão fosfato 0,05 M de pH 7,0. Tanto o suco quanto a solução tampão estavam em temperaturas de refrigeração, abaixo de 5°C. Depois disso, os extratos foram agitados por 30 segundos em vórtex (*Phoenix Luferco*, modelo AP 56, Brasil), mantidos em banho de gelo a 5°C e, posteriormente, centrifugados por 10 minutos sob rotação de 12000 *g* e temperatura de 5°C em centrífuga refrigerada (*SIGMA*, modelo 2-16KL). Após a centrifugação, os extratos foram filtrados a vácuo utilizando papel filtro qualitativo e retornaram ao banho de gelo.

A análise da atividade enzimática da POD foi determinada espectrofotometricamente através do monitoramento da formação do tetraguaiacol a 460 nm, gerado pela peroxidação do guaiacol, na presença de peróxido de hidrogênio. Para tal, 1500 µL de tampão citrato-fosfato 0,07 M com pH 5,0, 1000 µL do extrato enzimático foram transferidos para cubetas de poliestireno com distância do caminho ótico igual a 1 cm. As cubetas foram colocadas em banho térmico em um béquer com água até atingir a temperatura de aproximadamente 25°C, a qual foi medida com um termômetro digital (*Kasvi*, modelo K29-5030). As cubetas foram colocadas no espectrofotômetro (*PG Instruments Ltd*, T80 UV/VIS Spectrometer) e foi acrescentado 200 µL de peróxido de hidrogênio 0,29% (conc. final de 7,7 mM). Depois disso, foram transferidos 500 µL de água destilada para as cubetas utilizadas para o branco e 500 µL de solução aquosa de guaiacol 1,5% (v/v) para as cubetas de amostra, agitando as soluções pela sucção e liberação do volume através da ponteira da pipeta, procedendo-se à leitura no espectrofotômetro imediatamente após tal adição. As leituras, feitas em um comprimento de onda de 460 nm, foram realizadas em intervalos de 2 segundos até que a absorbância ultrapassasse o valor de 1,00 ou até que não houvesse mais variação de absorbância. O preparo do extrato enzimático foi realizado em monoplicata e o preparo do meio reacional e leitura em espectrofotômetro foi realizado em duplicata.

A atividade enzimática foi determinada utilizando a inclinação da reta quando plotados em um gráfico os valores de absorbância e tempo em minutos e considerando somente a seção linear da curva através de regressão linear. A Figura 3.3 apresenta um exemplo deste gráfico em uma amostra processada a 80 °C via AO 50 V. O valor da inclinação da reta foi dividido por 0,001, resultando na unidade de atividade enzimática por minuto (UAE/min), ou seja, a quantidade de enzima que causa o aumento de 0,001 unidades de absorbância por minuto. Após considerar o fator de diluição e a quantidade de amostra utilizada no meio reacional, os resultados foram expressos em unidade de atividade enzimática por minuto por grama de suco ($\text{UAE min}^{-1} \text{g}^{-1}$). A inativação da POD foi calculada pela atividade residual da enzima, dividindo-se a atividade da amostra analisada (*A*) pela atividade da amostra do tempo $t = 0$ (A_0).

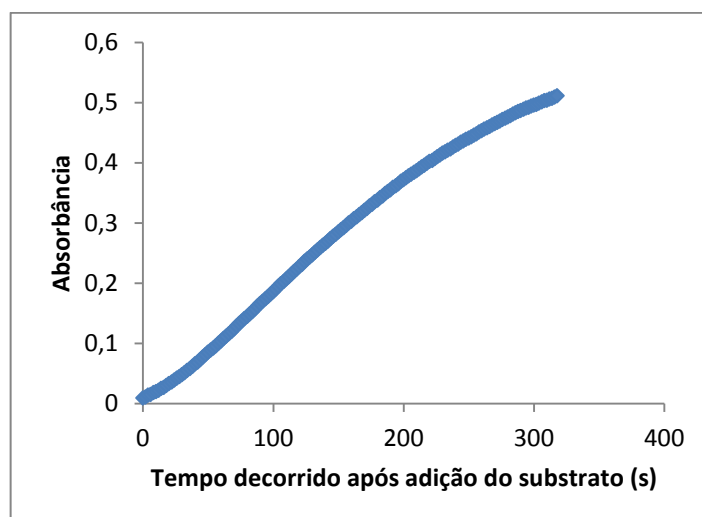


Figura 3.3: Variação de absorbância logo após a adição do substrato em uma amostra processada a 80 °C via AO 50 V.

3.4.2 Polifenoloxidase

A extração e análise da atividade enzimática da PPO foram baseadas no método de Brochier, Mercali e Marczak (2016). O extrato enzimático foi preparado transferindo-se 3 mL de suco de melancia e 7 mL de tampão fosfato 0,05 M de pH igual a 7,0 em tubo Falcon de 15 mL. A mistura foi agitada em vórtex por 30 segundos, centrifugada a 5°C por 10 minutos a uma rotação de 12000 g e, posteriormente, filtrada a vácuo em papel filtro qualitativo.

A atividade enzimática da PPO foi determinada espectrofotometricamente através do monitoramento da formação da benzoquinona a 420 nm, formada pela oxidação do catecol pela PPO. A análise da atividade enzimática foi feita em cubetas de poliestireno, acrescentando-se 2200 µL do tampão fosfato 0,05 M de pH 7,0 e 500 µL do extrato. Depois de a mistura atingir aproximadamente 25°C, foram acrescentados 300 µL de água destilada para as cubetas do branco e 300 µL de uma solução de catecol 0,6 M para as cubetas de amostra, agitando as soluções pela sucção e liberação do volume através da ponteira da pipeta. Depois disso, procedeu-se à leitura de absorbância em espectrofotômetro, utilizando comprimento de onda de 420 nm. Os cálculos da atividade enzimática foram realizados da mesma forma descrita na análise da POD.

3.4.3 Lipoxigenase

A extração e análise da atividade enzimática da LOX foi feita utilizando uma adaptação do método realizado por Rodrigo *et al.* (2006). Para o preparo do extrato enzimático, foi transferido 5 mL de suco de melancia e 2 mL de tampão fosfato de sódio 0,5M de pH igual a 6,5 contendo 0,5% (v/v) de Triton x-100. A solução foi agitada em vórtex por 30 segundos, centrifugada a 5°C por 10 minutos a uma rotação de 12000g e, posteriormente, filtrada a vácuo em papel filtro qualitativo.

A atividade da lipoxigenase é determinada espectrofotometricamente através do monitoramento da formação de dienos conjugados a 234 nm, gerados pela hidroperoxidação do ácido linoleico. A lipoxigenase catalisa a hidroperoxidação de ácidos graxos polinsaturados e ésteres contendo um sistema *cis*, *cis*-1,4-pentadieno. O substrato foi preparado em balão volumétrico de 25 mL, adicionando-se 4 mL de água destilada, 70 µL de Tween 20 e 77 µL de ácido

linoleico com 90% de pureza. A solução foi homogeneizada em vórtex e, logo após, foram acrescentados 125 µL de NaOH 4,8M. Por fim, o volume foi aferido com água destilada. Para a análise de atividade enzimática, foram adicionados 2700 µL de tampão fosfato de sódio 0,2 M de pH 6,5 e 100 µL do extrato enzimático a cubetas de quartzo. Após a mistura atingir aproximadamente 25°C, foram acrescentados 30 µL de água destilada para as duas cubetas do branco e 30 µL do substrato para as cubetas das amostras, agitando as soluções pela sucção e liberação do volume através da ponteira da pipeta. Logo depois, procedeu-se à leitura de absorbância foi feita em espectrofotômetro, utilizando comprimento de onda de 234 nm. O cálculo da atividade foi realizado da mesma maneira descrita na análise da POD.

3.5 Cinética de inativação

A análise da cinética de inativação foi realizada adaptando-se os dados de atividade residual dos experimentos a três modelos cinéticos disponíveis na literatura. Os modelos e suas respectivas equações estão apresentados na Tabela 3.2. O software utilizado para as análises foi o Statistica (versão 10, StatSoft, Inc. Tulsa, OK, EUA).

Tabela 3.3: Modelos avaliados de cinética de inativação

Nº Equação	Modelo	Equação
(3.1)	Weibull	$\frac{A}{A_0} = \exp(-bt^n)$
(3.2)	Primeira Ordem	$\frac{A}{A_0} = \exp(-kt)$
(3.3)	Isoenzimas distintas	$\frac{A}{A_0} = A_L \exp(-k_L t) + A_R \exp(-k_R t)$

O modelo de primeira ordem é o mais utilizado para descrever a inativação enzimática, baseado na premissa de que a quebra de uma ligação ou estrutura é o suficiente para inativar a enzima. Fujikawa e Itoh (1996), porém, demonstraram que o mecanismo de inativação é muito complexo e pode seguir cinéticas de diferentes ordens, sendo possível que dois modelos completamente distintos descrevam convenientemente a cinética do processo, como no caso da lipoxigenase inativada pelo calor.

A distribuição de Weibull tem como premissa o fato de que a taxa momentânea de sensibilidade térmica depende apenas da intensidade do aquecimento transiente e da atividade residual, mas não da taxa com que ela foi atingida. Os parâmetros b e n representam, respectivamente, a forma da curva de distribuição e a taxa de reação. Segundo Shalini, Shivhare e Basu (2008), a distribuição de Weibull é um modelo estocástico e descreve a cinética de inativação enzimática em variadas condições de processamento.

O modelo de isoenzimas distintas, por sua vez, sugere que a inativação enzimática é descrita pelos decaimentos exponenciais da isoenzima termolábil (índice L) e da isoenzima termoestável (índice R) (WEEMAES *et al.*, 1998).

Após a seleção do melhor modelo cinético, foram calculados o valor D e o tempo de meia vida ($t_{\frac{1}{2}}$) da atividade enzimática. O valor D representa o tempo no qual 90% da enzima foi inativada e tempo de meia vida é o tempo em que 50% da enzima foi inativada. Estes valores podem ser calculados pelas equações 3.4 e 3.5

$$D = \frac{2,303}{k} \quad (3.4)$$

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{\ln 2}{k} \quad (3.5)$$

3.6 Análise de cor

A cor dos sucos foi analisada em duplicata utilizando um colorímetro (HunterLab, modelo ColorQuest XE) no modo de reflectância com especular incluída, utilizando o iluminante D65 e ângulo de observação igual a 10°. O sistema de medida de cor utilizado foi o CIELAB, que possui três parâmetros: a^* , que vai do verde ao vermelho, numa escala de -60 a 60; b^* , que vai do azul ao amarelo também numa escala de -60 a 60; por fim, o parâmetro L^* , que representa a luminosidade e vai do preto ao branco numa escala de 0 a 100. A Figura 3.4 apresenta o diagrama tridimensional do sistema CIELAB.

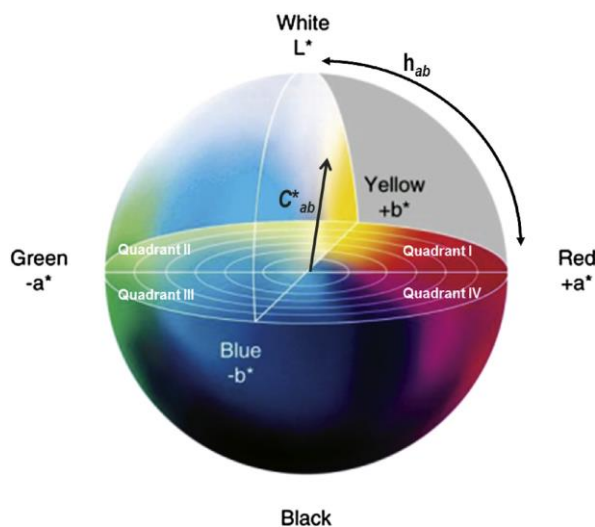


Figura 3.4: Diagrama tridimensional do sistema CIELAB. FONTE: (SANTANNA *et al.*, 2013)

Os principais atributos utilizados para a caracterização das cores são a tonalidade cromática, também chamada de ângulo hue, e a saturação, também chamada de croma. O ângulo hue, como demonstrado na Figura 3.3, é o valor em graus que corresponde, no diagrama tridimensional do sistema CIELAB, à cor como visualizada pelo olho humano, e é o atributo pelo qual se identificam as cores dos objetos como violeta, azul, verde, amarelo, laranja e vermelho. O cálculo do ângulo Hue h_{ab} depende do quadrante do diagrama no qual a amostra se encontra e é feito utilizando as seguintes equações:

$$h_{ab} = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right), \text{ quando a amostra está no 1º quadrante} \quad (3.6)$$

$$h_{ab} = 180 + \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right), \text{ quando a amostra está no 2º ou 3º quadrante} \quad (3.7)$$

$$h_{ab} = 360 + \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right), \text{ quando a amostra está no 4º quadrante} \quad (3.8)$$

O valor de croma é o vetor de distância do centro do diagrama até a cor medida e indica a pureza da cor. Quanto menor for este valor, mais fosca e próxima do cinza é a cor da amostra, enquanto valores maiores representam amostras de cores mais vivas. A pureza da cor C_{ab}^* é calculada segundo a equação 3.9:

$$C_{ab}^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (3.9)$$

Uma definição muito importante e muito utilizada para a caracterização de cores é a diferença total de cor, que mede a distância euclidiana entre dois pontos no diagrama tridimensional do sistema CIELAB. A diferença total de cor (ΔE^*) é calculada pela seguinte equação:

$$\Delta E^* = \sqrt{\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}} \quad (3.10)$$

Onde ΔL^* , Δa^* e Δb^* representam a diferença entre os parâmetros medidos na amostra de interesse e os parâmetros medidos em um objeto de referência (SANTANNA *et al.*, 2013). A Tabela 3.4 mostra os níveis de percepção humana da alteração de cor de acordo com valores de ΔE^* , conforme a norma alemã DIN 6174.

Tabela 3.4: Níveis de percepção humana da alteração de cor de acordo com valores de diferença total de cor (ΔE).

ΔE	Classificação
< 0,2	imperceptível
0,2 a 0,5	muito pequena
0,5 a 1,5	pequena
1,5 a 3,0	distinguível
3,0 a 6,0	facilmente distinguível
6,0 a 12,0	grande
>12,0	muito grande

3.7 Processamento térmico do suco e armazenamento refrigerado

Para esta etapa do estudo, foram selecionadas apenas as temperaturas de 80 e 90°C para a avaliação da atividade enzimática, da cor e dos carotenoides durante o armazenamento. Foram utilizados três diferentes tratamentos térmicos para cada temperatura: aquecimento convencional (AC); aquecimento ôhmico a 50 V (AO 50V), utilizando os banhos de aquecimento; e aquecimento ôhmico à tensão variável (AO TV), sem a utilização dos banhos térmicos. A preparação dos banhos térmicos e válvulas nos tratamentos térmicos via AC e AO 50 V foram realizados de maneira semelhante ao procedimento descrito na seção 3.3, enquanto o tratamento térmico via AO TV foi realizado apenas alterando-se a voltagem no variador de tensão de modo que a amostra atingisse a temperatura desejada e permanecesse nela, sem a utilização dos banhos térmicos. No AO TV foi aplicada uma tensão inicial alta, em torno de 120 V, a qual foi sendo reduzida gradativamente até aproximadamente 20 V em ambos os experimentos, momento em que atingiu a temperatura do experimento.

As amostras foram processadas até tempos tais que a inativação atingisse aproximadamente 90% da atividade enzimática da amostra *in natura*. Imediatamente após o tratamento térmico, o suco foi transferido para um béquer de vidro e imerso em banho de gelo a 5°C, até atingir a temperatura ambiente. Alíquotas de 5 e de 15 mL do suco pasteurizado foram transferidas para tubos Falcon de 15 mL e armazenadas por 14 dias, protegidas da luz, em uma geladeira (*Brastemp*, modelo BRM42, Brasil) sob temperatura média de 1°C. Os tubos contendo 5 mL foram utilizados para análise de cor e de atividade enzimática e os tubos contendo 15 mL foram utilizados na análise do teor de carotenoides totais no último dia de armazenamento. Os dias nos quais foi feita cada análise são apresentados na Tabela 3.5, sendo que o dia em que foi feito o experimento é chamado de “dia 0”. A atividade enzimática foi calculada dividindo-se a atividade da amostra no dia em que ela foi medida pela atividade da amostra no dia do experimento.

Tabela 3.5: Dias em que foram realizadas as análises.

Análise	T do experimento (°C)	Dias
Atividade Enzimática da POD	80	0, 1, 3, 6, 8, 10 e 14
Atividade Enzimática	90	0, 1, 3, 7, 9, 11 e 14
Análise de cor	80 e 90	0 e 14
Análise de carotenoides totais	80 e 90	0 e 14

3.8 Análise de carotenoides

A análise de carotenoides foi feita baseada no método utilizado por Kumar *et al.* (2013). Alíquotas de 0,5 mL da amostra *in natura* e de cada amostra previamente tratada (AC, AO 50V e AOVV), foram transferidas para tubos Falcon de 50 mL e pesadas. Depois disso, foi acrescentado 5 mL de acetona e 5 mL de etanol P.A. em cada tubo, seguido pela adição de 10 mL de hexano e posterior agitação em vórtex por 30 segundos. Em seguida, foi transferido 3 mL de água destilada para cada tubo e se esperou aproximadamente 5 minutos para que a separação de fases fosse completa. A fase superior foi removida com pipeta pasteur de vidro para um erlenmeyer e prontamente foi protegida da luz. As reextrações foram feitas adicionando-se 10 mL de hexano nos tubos e esperando 2 minutos para a melhor separação de fases, posteriormente acrescentando a fase superior ao mesmo erlenmeyer. Foram realizadas duas reextrações para cada amostra. Depois disso, foi transferido sulfato de sódio anidro para o erlenmeyer, numa quantidade tal que o sal não formasse mais grumos, para garantir que não houvesse água misturada com o hexano e os carotenoides. A solução foi transferida para balão de fundo redondo protegido da luz e o hexano foi removido em evaporador rotativo (*Fisatom*, modelo 803) à temperatura de 33°C e rotação máxima de 200 rpm. Ao final da evaporação, os carotenoides foram ressuspensos em éter de petróleo e a solução foi transferida para balão volumétrico de 25 mL. A extração de licopeno foi realizada em triplicata para as amostras *In natura* e em duplicata para cada replicata das amostras processadas.

As absorbâncias das amostras foram lidas em um comprimento de onda de 470 nm, e seus espectros foram analisados na faixa de 300 a 700 nm. Os cálculos do teor de carotenoides totais foram feitos em base seca, conforme apresentado nas equações 3.11 e 3.12.

$$\text{Teor de carotenoides totais} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right) = \frac{[\text{absorbância} \times 10^4 \times \text{FD}]}{\text{coeficiente de absortividade}} \quad (3.11)$$

$$\text{Teor de carotenoides totais} \left(\frac{\mu g}{g \text{ bs}} \right) = \frac{\text{Teor de carotenoides totais} \left(\frac{\mu g}{mL} \right)}{m \times \left[1 - \frac{\text{teor de umidade}}{100} \right]} \quad (3.12)$$

Onde o coeficiente de absorvidade do licopeno em éter de petróleo e é igual a 3450, FD é o fator de diluição da amostra e m é a massa da amostra.

3.9 Análise Estatística

Os dados obtidos foram analisados estatisticamente utilizando o software Statistica (versão 10, StatSoft, Inc. Tulsa, OK, EUA). Utilizando os diferentes modelos cinéticos citados na seção 3.5, os valores preditos por cada modelo ($\alpha_{previsto}$) foram comparados com os dados experimentais ($\alpha_{experimental}$). Os parâmetros calculados foram o qui-quadrado (χ^2) e o desvio padrão da média (SEM), segundo as equações 3.13 e 3.14, respectivamente.

$$\chi^2 = \frac{\sum (\alpha_{previsto} - \alpha_{experimental})^2}{n - p} \quad (3.13)$$

$$SEM = \frac{\sum (\alpha_{previsto} - \alpha_{experimental})^2}{\sqrt{n}} \quad (3.14)$$

onde n é o número de observações realizadas no experimento e p é o número de parâmetros do modelo.

A comparação dos dados obtidos para verificação de diferenças significativas foi feita utilizando o método One-Way ANOVA.

4 Resultados e Discussão

4.1 Caracterização do suco

Os resultados da caracterização do suco de melancia *in natura* são apresentados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1: Parâmetros do suco de melancia *In natura*.

Parâmetro	Valores
Teor de umidade (%)	90,959 ± 0,003
Sólidos Solúveis (°Brix)	9,8 ± 0,0
pH	5,94 ± 0,01
Condutividade elétrica (mS/cm)	3,34 ± 0,02
Atividade POD (UAE/min/g)	6873 ± 1727
L*	32,80 ± 0,79
a*	7,58 ± 0,01
b*	2,70 ± 0,01
Ângulo Hue	19,62 ± 0,10
Croma	8,05 ± 0,01

O ângulo Hue, calculado pela equação 3.4, mostra que a cor do suco tende ao vermelho. Os valores de teor de umidade, sólidos solúveis totais, pH e atividade de POD são compatíveis com os encontrados na literatura. Por sua vez, os valores de condutividade elétrica e de cor encontrados na literatura variam com o cultivar da melancia e como não foram encontrados estudos com o cultivar Manchester F1, os dados obtidos não puderam ser comparados com a literatura (NAMINI *et al.*, 2015; AGUILÓ-AGUAYO; SOLIVA-FORTUNY; MARTÍN-BELLOSO, 2010; GUO; ZHU; NELSON, 2013).

4.2 Atividade de PPO e LOX

As atividades de PPO e LOX foram analisadas em amostras *in natura* do suco de melancia, mas não foi detectada a presença dessas enzimas. Assim, as análises posteriores não foram feitas para estas enzimas, apenas para a POD. Estudos demonstram a presença dessas enzimas na melancia, e uma possível explicação para o resultado encontrado pode ser a variação das propriedades deste alimento dependendo do cultivar estudado (LIU *et al.*, 2011; AGUILÓ-AGUAYO; SOLIVA-FORTUNY; MARTÍN-BELLOSO, 2010).

4.3 Efeito do tratamento térmico na atividade da peroxidase (POD)

A inativação de POD foi estudada nas temperaturas de 70, 80 e 90°C, via aquecimentos ôhmico e convencional, de modo que se avaliasse a influência da temperatura e do tipo de aquecimento utilizado na inativação da enzima. Para que apenas os efeitos elétricos fossem comparados, os perfis de aquecimento dos tratamentos térmicos via aquecimentos convencional e ôhmico foram similares para cada temperatura avaliada, como apresentado na Figura 4.1. O

tempo de duração das rampas de aquecimento foi de 4 minutos para os experimentos a 70°C, 6 minutos para os experimentos a 80°C e 11 minutos para os experimentos a 90°C. A inativação de POD ocorrida durante as rampas foi de aproximadamente 28% para os experimentos a 70°C e 80°C, enquanto que para 90°C a inativação foi de aproximadamente 82%.

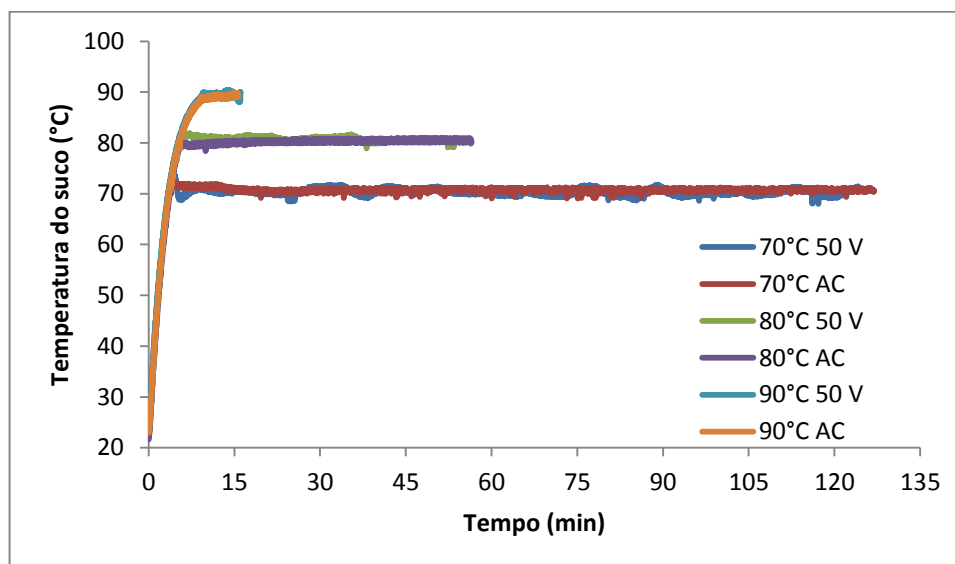


Figura 4.1: Perfis de aquecimento dos processamentos térmicos via AC e AO 50 V.

O perfil da inativação de POD, adimensionalizado com relação à atividade no tempo 0, para cada experimento está apresentado na Figura 4.2. O tempo 0 representa o final da rampa de aquecimento, ou seja, quando a temperatura desejada foi alcançada e, no caso dos experimentos com aquecimento ôhmico, quando iniciou a aplicação da tensão de 50 V (7,5 V/cm). Os experimentos à mesma temperatura apresentaram o mesmo perfil de inativação enzimática, independentemente tipo de aquecimento aplicado. No tratamento a 70°C, a inativação máxima obtida foi de aproximadamente 34% num período de 120 minutos. Os processamentos a 80°C apresentaram uma inativação intermediária com relação às outras duas temperaturas, alcançando por volta de 80% de inativação após 50 minutos de tratamento. Por último, os experimentos a 90°C se mostraram muito mais eficientes na inativação da POD, alcançando cerca de 92% de inativação com relação ao tempo 0 após, apenas, 3 minutos de aquecimento.

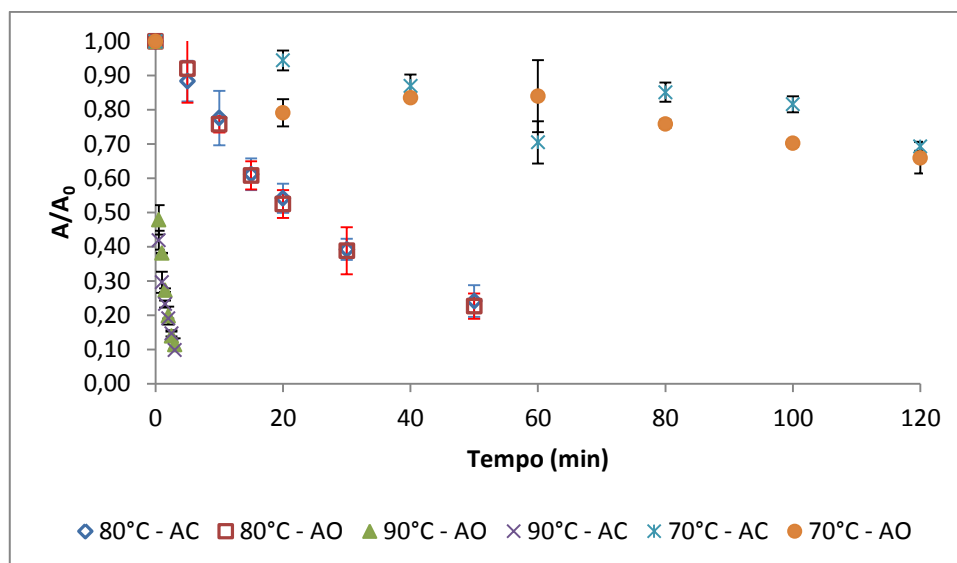


Figura 4.2: Perfil de inativação de POD com o tempo para tratamento térmico avaliado.

A cinética de inativação dos experimentos a 80°C e 90°C foi adaptada para três modelos estudados na literatura. Não foram obtidos resultados referentes à cinética de inativação para os experimentos a 70°C pela falta de pontos nos quais a inativação é próxima ou maior que 50%. Os valores de R^2 , SEM e χ^2 obtidos para cada experimento são apresentados na Tabela 4.2.

Tabela 4.2: Parâmetros calculados para a cinética de inativação.

Modelo	Tratamento	R ²		χ^2		SEM	
		Temperatura					
		80	90	80	90	80	90
Distribuição de Weibull	AC	0,998	0,198	0,0002	0,0919	0,0003	0,1736
Distribuição de Weibull	AO 50 V	0,994	0,261	0,0006	0,0837	0,0010	0,1581
Primeira Ordem	AC	0,998	0,922	0,0002	0,0075	0,0004	0,0169
Primeira Ordem	AO 50 V	0,994	0,948	0,0005	0,0049	0,0011	0,0111
Isoenzimas distintas	AC	0,998	0,999	0,0002	0,0001	0,0003	0,0001
Isoenzimas distintas	AO 50 V	0,994	0,999	0,0005	0,0001	0,0009	0,0002

Os parâmetros da distribuição de Weibull apresentaram grande diferença entre cada temperatura, com R^2 elevado para 80°C, mas muito baixo para 90°C, enquanto o χ^2 e SEM foram relativamente baixos a 80°C, mas muito altos a 90°C. Já o modelo de isoenzimas distintas, apesar dos altos valores de R^2 e baixos χ^2 e SEM , apresentou constantes cinéticas negativas, o que é fisicamente impossível, sendo, portanto, descartado. O modelo que apresentou um melhor ajuste para ambas as temperaturas estudadas foi o modelo de Primeira Ordem, sendo o

modelo escolhido para ser avaliado nas análises posteriores. Resultados similares para a cinética de inativação da POD foram encontrados para a cenoura, o feijão verde, batata e tomate (GONÇALVES *et al.*, 2007). A Tabela 4.3 apresenta os parâmetros encontrados para este modelo.

Conforme pode ser observado na Tabela 4.3, não há diferença entre os tratamentos via AC e AO 50 V a 80°C, pois, provavelmente, o efeito térmico a essa temperatura é preponderante ao efeito elétrico. Nos experimentos a 90°C, por sua vez, a constante cinética foi significativamente maior para o aquecimento convencional do que para o aquecimento ôhmico. Jakób *et al.* (2010) não encontrou diferença entre a utilização de aquecimento ôhmico e convencional na cinética de inativação de POD a 70°C para cenoura, brócolis e batata. Brochier *et al.* (2016) encontrou resultados semelhantes para o caldo de cana a 70°C, mas concluiu que a POD inativa mais rapidamente no mesmo alimento quando se utiliza aquecimento ôhmico ao invés de convencional a 80°C. Os valores encontrados de D e $t_{\frac{1}{2}}$ foram maiores para os dois processamentos térmicos realizados a 80°C, indicando a inativação mais lenta de POD a esta temperatura. As diferenças entre os parâmetros cinéticos da inativação de POD variam de acordo com o alimento estudado, o que pode explicar as diferenças encontradas entre os parâmetros da melancia do cultivar Manchester F1 e outros alimentos (SHALINI; SHIVHARE; BASU, 2008).

Tabela 4.3: Valor da constante de velocidade, D e $t_{\frac{1}{2}}$ para cada tratamento térmico.

Tipo de aquecimento	k^* (min ⁻¹)	D (min)	$t_{1/2}$ (min)
80°C convencional	0,030 ± 0,004 ^c	77,44 ± 8,58	23,35 ± 2,58
80°C AO 50 V	0,030 ± 0,004 ^c	77,00 ± 9,41	23,31 ± 2,83
90°C convencional	1,137 ± 0,078 ^a	2,04 ± 0,14	0,612 ± 0,042
90°C AO 50 V	0,949 ± 0,006 ^b	2,428 ± 0,012	0,731 ± 0,004

*médias com letras diferentes na mesma coluna representam valores significativamente diferentes (p<0,05).

4.4 Efeito do tratamento térmico na cor

Os parâmetros de cor do suco de melancia foram monitorados em cada tempo da pasteurização, de acordo com os tempos de medida anteriormente apresentados na Tabela 3.2.

Os valores dos parâmetros a^* , b^* e L^* de cada tratamento estão mostrados na Figura 4.3. Observa-se que, em todos os tratamentos utilizados, os três parâmetros permaneceram constantes a partir do tempo 0. Além disso, os valores são semelhantes para os três tipos de aquecimento. A variação dos parâmetros do suco *in natura* até o tempo 0, para todos os processamentos, foi de 31,84 ± 1,13 para 32,85 ± 1,29 para o L^* ; de 7,07 ± 0,27 para 7,43 ± 0,18 para o a^* e, por fim, de 2,17 ± 0,10 até 3,46 ± 0,03 para o b^* . O grande aumento de b^* demonstra que a cor do suco tende ao amarelo após a rampa de aquecimento.

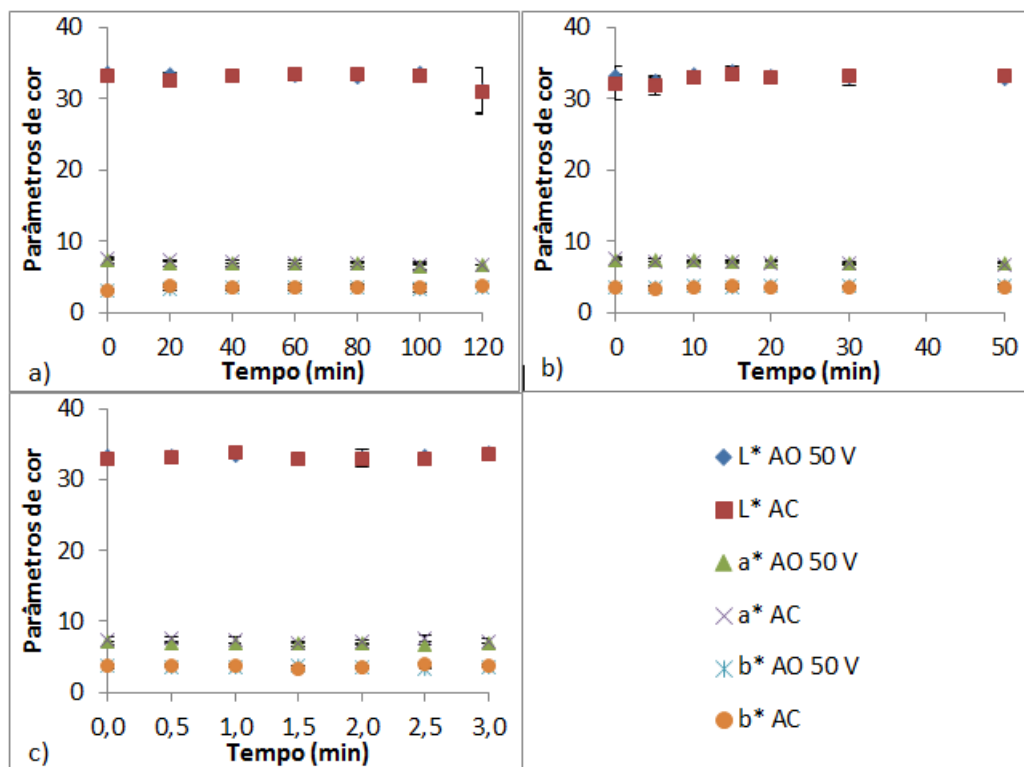


Figura 4.3: Variação de L^* , a^* e b^* ao longo do tempo de processamento nas temperaturas de: a) 70°C; b) 80°C; c) 90°C.

O ângulo Hue apresentou aumento a partir do tempo 0 para ambos os experimentos a 70°C e para o tratamento a 80°C via AO 50 V, enquanto permaneceu aproximadamente constante para todos os outros processamentos. Não houve diferença significativa entre os valores encontrados para os diferentes tratamentos após o fim de cada aquecimento. O aumento do ângulo Hue durante a rampa de aquecimento foi de $17,26 \pm 0,52$ na amostra *In natura*, para $22,58 \pm 0,10$ a 70°C, $25,16 \pm 0,26$ a 80°C e $27,09 \pm 0,16$ a 90°C. Os resultados mostraram que houve, para todas as temperaturas, alteração do ângulo Hue ainda durante a rampa de aquecimento. Desta forma, todos os sucos processados apresentaram cor mais perto do amarelo e mais distante do vermelho após a pasteurização, corroborando com os resultados encontrados para o parâmetro b^* . A Figura 4.5 mostra a variação de ângulo Hue ao longo dos diferentes tipos de aquecimento.

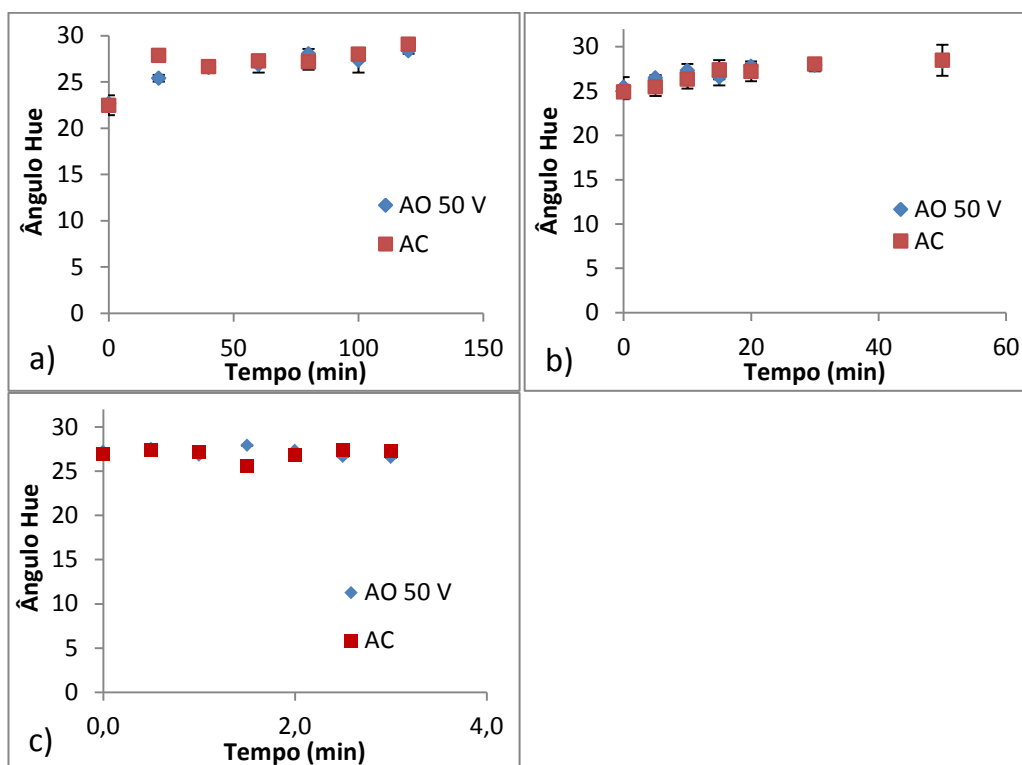


Figura 4.4: Variação do ângulo Hue ao longo do tempo de processamento nas temperaturas de: a) 70°C; b) 80°C; c) 90°C.

O valor de croma do suco apresentou valores semelhantes e permaneceu constante após o tempo 0 para todos os experimentos, como demonstra a Figura 4.4. Por outro lado, houve alteração semelhante neste valor para todos os experimentos durante as rampas de aquecimento, passando de aproximadamente 7,20 na amostra *in natura* para 8,20 no tempo 0, indicando que a vivacidade da cor do suco aumentou durante a rampa de aquecimento, mas se manteve constante após o tempo 0.

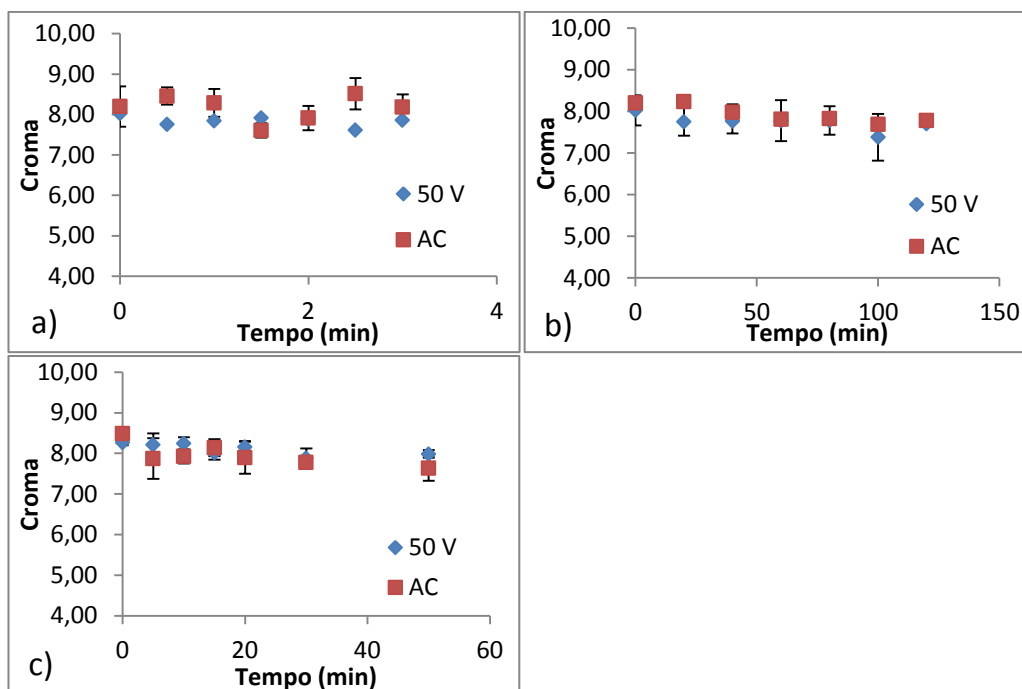


Figura 4.5: Variação de croma ao longo do tempo de processamento nas temperaturas de: a) 70°C; b) 80°C; c) 90°C.

Makroo *et al.* (2017) reportaram perfis similares para a alteração dos valores de croma e do ângulo Hue com relação à amostra *in natura* na melancia a 90°C, mas seus resultados indicaram menor variação quando se utiliza aquecimento ôhmico a 24 V/cm para o tratamento de suco de melancia. A explicação para a diferença encontrada pode ser o fato de que a voltagem utilizada no presente trabalho foi menor.

A diferença total de cor foi calculada utilizando-se as médias dos parâmetros L, a* e b* no tempo 0 e ao final de cada experimento, segundo a equação 3.10. A Tabela 4.4 apresenta os valores de ΔE com relação ao suco *in natura* e ao tempo 0 e seus níveis correspondentes de percepção humana, conforme mostrado anteriormente na Tabela 3.4. Todos os diferentes tratamentos apresentaram uma alteração de cor distinguível quando se calcula o ΔE com relação ao suco *in natura*, mas tiveram alteração pequena quando a comparação é com o tempo 0. Isso demonstra que a maior parte da alteração de cor do suco durante o processamento ocorre durante a rampa de aquecimento.

Tabela 4.4: Valores de diferença total de cor (ΔE) e nível de percepção humana da alteração de cor com relação ao suco *in natura* e ao tempo 0 ao final de cada processamento.

Tratamento	ΔE com relação ao suco <i>in natura</i>	Nível de percepção humana	ΔE com relação ao tempo 0	Nível de percepção humana
70°C - AC	1,74	distinguível	1,01	pequena
70°C - AO 50 V	1,94	distinguível	0,86	pequena
80°C - AC	1,50	distinguível	1,12	pequena
80°C - AO 50 V	2,12	distinguível	0,50	pequena
90°C - AC	1,96	distinguível	0,71	pequena
90°C - AO 50 V	1,81	distinguível	0,46	pequena

4.5 Monitoramento da atividade da peroxidase durante o armazenamento

O suco foi submetido a diferentes temperaturas (80 e 90°C) e tipos de tratamento (AC, AO e AO TV) e posteriormente armazenado em geladeira a 1°C para que a atividade de POD fosse avaliada nos dias descritos na Tabela 3.4. Os perfis de aquecimento de cada processamento são apresentados na Figura 4.6 e o perfil de tensão durante o aquecimento via AO TV é mostrado na Figura 4.7. Para os tratamentos térmicos via AO 50 V e AC o perfil de aquecimento foi semelhante ao apresentado anteriormente na Figura 4.1 em ambas as temperaturas. O aquecimento a 80°C via AO TV obteve rampa de mesma duração do que os outros experimentos a esta temperatura, mas, para aquecimento a 90°C, apresentou rampa menor para alcançar a temperatura desejada, com duração de 7 min. A inativação de POD obtida ao final dos processamentos para todos os tratamentos térmicos a 80 e 90°C foi de 94%.

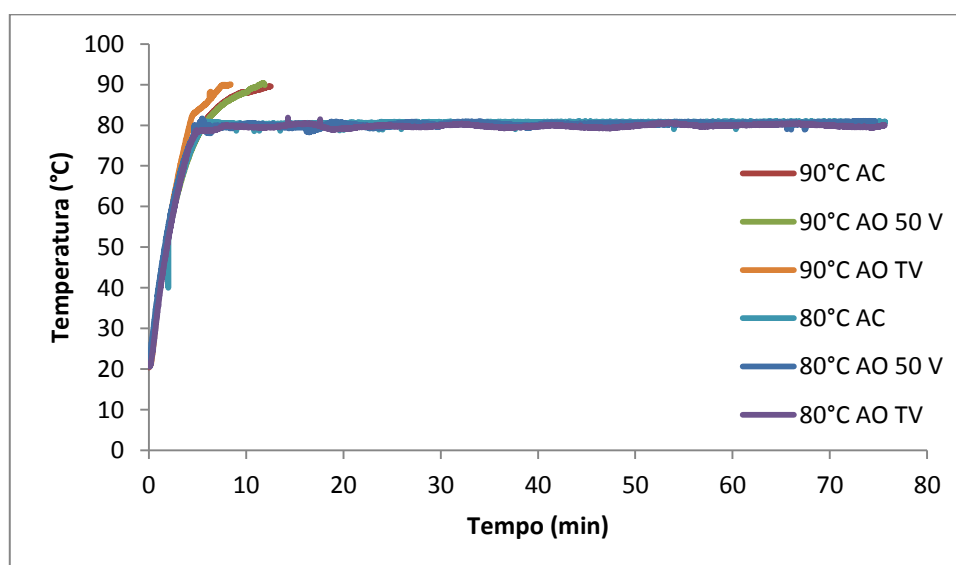


Figura 4.6: Perfis de aquecimento durante o tratamento térmico do suco de melancia para posterior armazenamento.

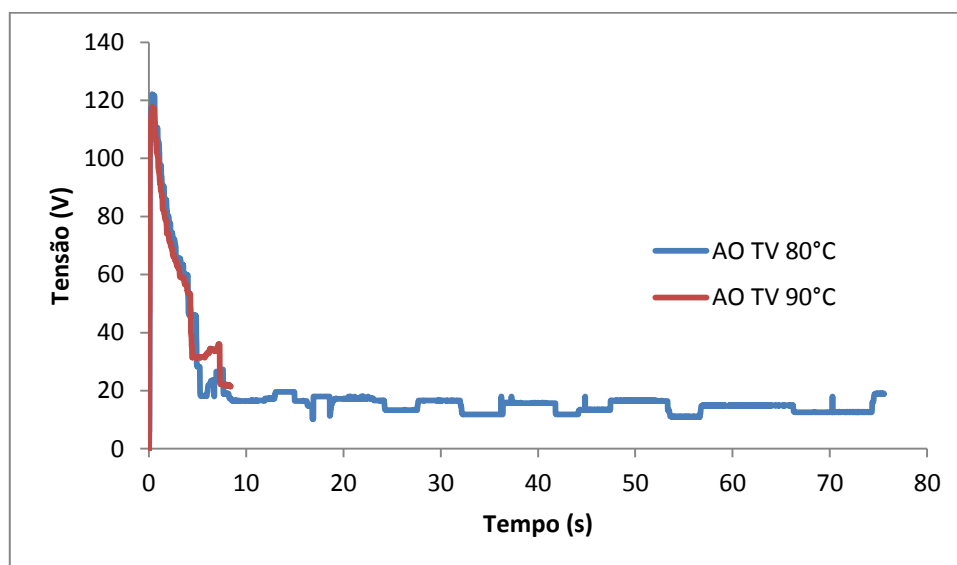


Figura 4.7: Perfil de tensão elétrica dos experimentos que utilizaram tensão variável.

Os resultados dos experimentos a 90°C são demonstrados na Figura 4.8. Em geral, ao longo de 14 dias de armazenamento não houve diferença significativa na atividade de POD dos sucos pasteurizados via aquecimentos ôhmico, com e sem tensão variável, e convencional. Foi observado que, após 14 dias de armazenamento, a atividade diminui cerca de 55% para todos os tratamentos térmicos a 90°C. Aguiló-Aguayo *et al.* (2010) encontraram resultados condizentes para a regeneração de POD na melancia processada a 90°C.

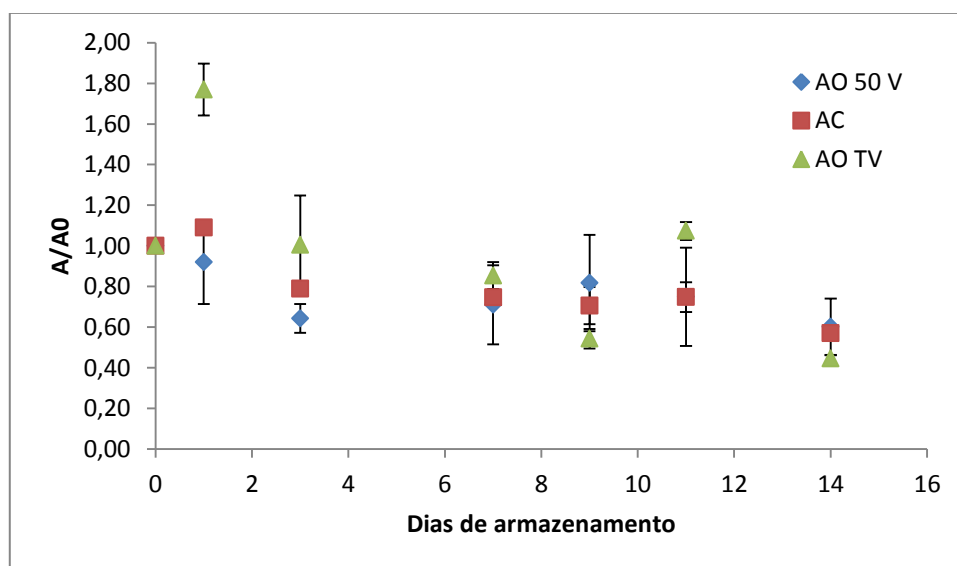


Figura 4.8: Atividade residual de POD durante o armazenamento refrigerado do suco de melancia processado a 90°C

Ao contrário do tratamento térmico a 90°C, o suco pasteurizado a 80°C apresentou um aumento na atividade da POD durante o armazenamento conforme demonstra a Figura 4.9. O valor da atividade enzimática para o tratamento AO TV após 14 dias não foi incluído pois a medida da atividade somente pôde ser feita no dia seguinte e, desta forma, o resultado obtido não é inteiramente confiável. O aquecimento convencional apresentou regeneração de POD de $38 \pm 0,16\%$, enquanto o aquecimento ôhmico regenerou aproximadamente $10 \pm 0,07\%$ da enzima ao final dos 14 dias. A diferença entre as atividades de POD durante o armazenamento após os tratamentos a 80 e 90°C pode se dever ao fato de que ocorrem mais mudanças conformacionais na enzima a 90°C, enquanto a uma temperatura menor há maior reconstituição do heme no sítio ativo perdido durante a inativação inicial.

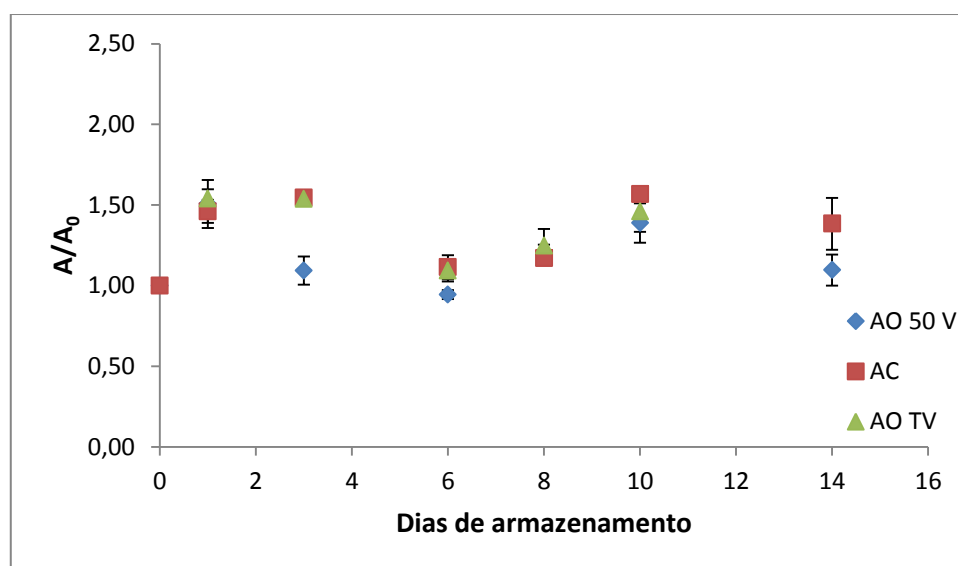


Figura 4.9: Atividade residual de POD no suco processado a 80°C durante o armazenamento.

4.6 Monitoramento da cor durante o armazenamento

A cor das amostras durante o armazenamento foi avaliada nos dias 0 e 14, e os parâmetros obtidos são apresentados na Tabela 4.5. Durante o armazenamento, a luminosidade decresceu para ambas as amostras *in natura* e para as amostras que foram processadas a 80°C, enquanto que, para o suco processado a 90°C, ela cresceu no suco pasteurizado via AO TV e permaneceu constante nos outros tipos de tratamento. Os valores de a^* e b^* não apresentaram diferença significativa entre o início e o fim do armazenamento do suco tratado via AC e AO 50 V a 90°C, mas reduziram significativamente no suco tratado via AO TV. Nas amostras tratadas a 80°C, por outro lado, o valor de b^* apresentou aumento para todos os tipos de tratamento, indicando que a cor do suco processado a esta temperatura sempre tende ao amarelo após o armazenamento. O valor do parâmetro a^* cresceu significativamente após os 14 dias para a pasteurização via AO 50 V 80°C, mas não apresentou diferença significativa no tratamentos via AO TV e AC a esta temperatura.

Tabela 4.5: Valores dos parâmetros de cor durante o armazenamento para cada tratamento.

Processamento	<i>L</i> [*]		<i>a</i> [*]		<i>b</i> [*]	
	Dia 0	Dia 14	Dia 0	Dia 14	Dia 0	Dia 14
<i>in natura</i> [*]	33,37 ± 0,16 ^A	29,34 ± 0,05 ^B	6,65 ± 0,22 ^A	8,52 ± 0,02 ^B	1,98 ± 0,00 ^A	2,76 ± 0,03 ^B
90°C – AC [*]	34,31 ± 0,01 ^A	32,62 ± 1,12 ^A	7,62 ± 0,14 ^A	7,42 ± 0,13 ^A	3,63 ± 0,13 ^A	3,99 ± 0,21 ^A
90°C - AO 50 V [*]	33,1 ± 0,6 ^A	34,06 ± 0,00 ^A	7,67 ± 0,22 ^A	7,07 ± 0,12 ^A	3,56 ± 0,16 ^A	3,87 ± 0,09 ^A
90°C - AO TV [*]	31,63 ± 0,36 ^A	33,32 ± 0,20 ^B	7,84 ± 0,14 ^A	6,88 ± 0,30 ^B	4,08 ± 0,08 ^A	3,69 ± 0,20 ^B
<i>in natura</i> [*]	32,08 ± 0,01 ^A	28,08 ± 0,14 ^B	7,15 ± 0,00 ^A	7,72 ± 0,08 ^B	2,20 ± 0,00 ^A	6,22 ± 0,02 ^B
80°C – AC [*]	32,48 ± 0,13 ^A	29,68 ± 0,26 ^B	6,46 ± 0,97 ^A	7,29 ± 1,29 ^A	3,44 ± 0,94 ^A	7,94 ± 0,82 ^B
80°C - AO 50 V [*]	32,44 ± 0,40 ^A	29,73 ± 0,03 ^B	4,70 ± 0,29 ^A	5,38 ± 0,27 ^B	2,97 ± 0,18 ^A	6,02 ± 0,36 ^B
80°C - AO TV [*]	33,22 ± 0,81 ^A	30,00 ± 0,26 ^B	9,32 ± 0,29 ^A	9,77 ± 1,46 ^A	5,03 ± 0,13 ^A	9,51 ± 0,91 ^B

*letras diferentes na mesma linha e referentes ao mesmo parâmetro representam diferença significativa (p<0,05).

Observa-se que os valores de croma e do ângulo hue, apresentados na Tabela 4.6, não se alteraram significativamente nas amostras processadas a 90°C após os 14 dias, diferentemente das amostras processadas a 80°C e das amostras *In natura*, nas quais houve um aumento destes valores.

Tabela 4.6: Valores de croma e de ângulo Hue durante o armazenamento.

	Processamento	C*ab		Hue	
		Dia 0	Dia 14	Dia 0	Dia 14
90°C	<i>In natura</i>	6,93 ± 0,22	8,95 ± 0,01	16,57 ± 0,49	17,96 ± 0,21
	AC	8,44 ± 0,19	8,42 ± 0,21	25,45 ± 0,39	28,26 ± 0,84
	AO 50 V	8,46 ± 0,13	8,11 ± 0,14	24,93 ± 1,64	28,71 ± 0,13
	AO TV	8,84 ± 0,16	7,81 ± 0,36	27,49 ± 0,04	28,19 ± 0,27
80°C	<i>In natura</i>	7,47 ± 0,003	9,91 ± 0,07	17,08 ± 0,05	38,82 ± 0,16
	AC	7,33 ± 1,29	10,79 ± 1,48	27,46 ± 3,00	47,77 ± 2,16
	AO 50 V	5,56 ± 0,34	8,08 ± 0,08	32,27 ± 0,03	48,17 ± 3,12
	AO TV	10,59 ± 0,32	13,64 ± 1,68	28,36 ± 0,12	44,41 ± 1,55

A diferença total de cor (ΔE), medida com relação ao dia 0, apresentou valores mais elevados nas amostras *in natura* e nas processadas a 80°C. Como apresentado pela Tabela 4.7, todas as amostras processadas a 80°C demonstraram uma alteração de cor facilmente distinguível entre o primeiro e último dias de armazenamento, diferentemente das que foram processadas a 90°C.

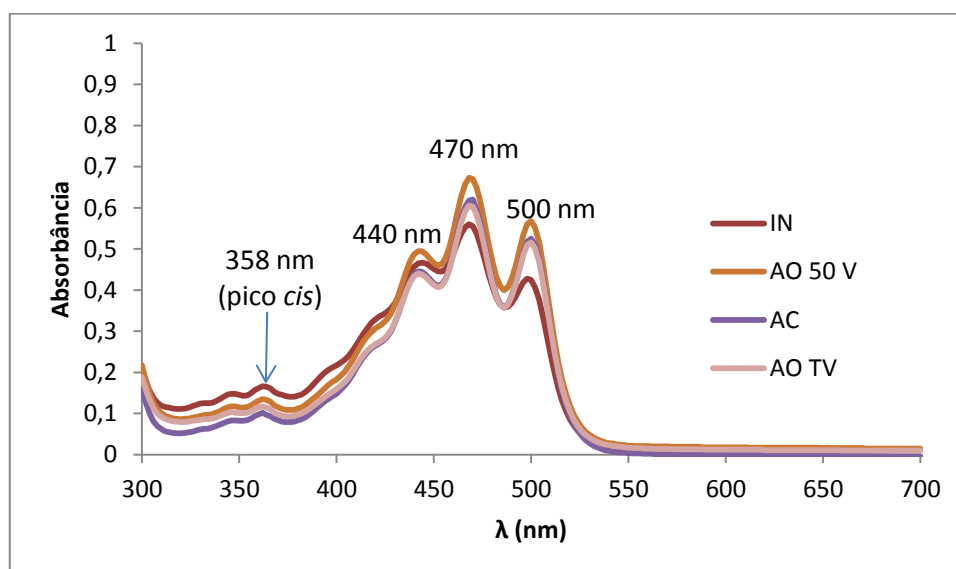
Tabela 4.7: Diferença total de cor e correspondentes nível de percepção para cada tratamento após o armazenamento.

	Processamento	ΔE	Nível de percepção
90°C	IN	4,51	Facilmente distinguível
	AC	1,17	Pequena
	AO 50 V	1,74	Distinguível
	AO TV	1,98	Distinguível
80°C	IN	5,70	Facilmente distinguível
	AC	4,13	Facilmente distinguível
	AO 50 V	5,37	Facilmente distinguível
	AO TV	5,53	Facilmente distinguível

Aguiló-Aguayo et al (2010) e Ishita e Athmaselvi (2017) encontraram resultados semelhantes para a alteração de cor do suco de melancia após processamento a 90 e 95°C, respectivamente. A alteração de cor maior que ocorreu a 80°C e nas amostras *In natura* pode se dever à maior atividade de POD no suco durante o armazenamento.

4.7 Monitoramento do teor de carotenoides durante o armazenamento

A Figura 4.10 mostra o espectro de absorção UV-Visível do suco *in natura* e dos sucos logo após o tratamento térmico. Pode-se observar que o extrato de carotenoides apresenta 3 picos nos comprimentos de onda de 440, 470 e 500 nm, o que é condizente com o encontrado na literatura para o licopeno, o carotenoide de maior proporção na melancia. Todas as amostras do primeiro dia e do dia 14 apresentaram um espectro com o mesmo perfil.

**Figura 4.10:** Espectro de absorção do extrato de carotenoides das amostras *In natura* e processadas.

A isomerização do *all-trans*-licopeno, forma natural do carotenoide, em *cis*-licopeno, é uma reação que acontece na fruta quando ela é cortada ou triturada, liberando ácidos orgânicos que promovem esta transformação. Além disso, a isomerização é catalisada pela luz e, principalmente, pelo calor (RODRIGUEZ-

AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008). Britton (1995) conclui que a formação de um *cis*-carotenoide se caracteriza por um pico localizado aproximadamente 142 nm antes do pico de comprimento de onda mais alto. Desta forma, o pico *cis* deveria estar no comprimento de onda de aproximadamente 358 nm neste trabalho. Os resultados obtidos, no entanto, demonstraram que a isomerização não ocorreu ou foi mínima no suco de melancia, tanto nas amostras *In natura* quanto nas amostras processadas, não havendo influência do tratamento utilizado. Estes resultados podem ser explicados por especificidades no comportamento dos carotenoides neste cultivar de melancia, além do fato de que as amostras ficaram protegidas da luz durante todos os procedimentos, impedindo a catálise da isomerização pela luz.

Outro aspecto importante a se notar no espectro obtido é a ausência de clorofila na amostra. Presente em muitos vegetais, a clorofila se caracteriza por apresentar um pico de absorção em torno de 669 nm e outro próximo a 432 nm (MARQUEZ; SINNECKER, 2007). Desta forma, a presença de clorofila causaria uma interferência nos picos de absorção do licopeno, superestimando seu teor e fazendo com que fosse necessária realizar a etapa de saponificação das amostras para que a análise pudesse prosseguir. Porém, como é possível observar na Figura 4.8, não há nenhum pico de absorção na região próxima a 669 nm e, portanto, a clorofila não está presente, justificando a opção de não saponificar as amostras durante a extração. Segundo Rodriguez-Amaya (2010), a saponificação não é necessária em alimentos como tomate e cenoura, que apresentam baixo teor de gordura e livres de ésteres de carotenoides.

Os resultados da quantificação de licopeno no primeiro e último dias de análise são mostrados na Tabela 4.8. Observa-se que a quantidade de licopeno, calculada pela equação 3.12, é semelhante para todas as amostras no primeiro dia, e que há um aumento, também em todas as amostras, após duas semanas.

Tabela 4.8: Teor de carotenoides totais durante o armazenamento do suco de melancia pasteurizado por diferentes tratamentos.

	Dia 0*	Dia 14*
Tratamento	Teor de licopeno ($\mu\text{g/g}$ suco bs)	Teor de licopeno ($\mu\text{g/g}$ suco bs)
<i>in natura</i> **	456,90 \pm 20,38 ^{ab}	719,31 \pm 9,54 ^{abA}
90°C - AO 50 V**	478,45 \pm 35,01 ^{ab}	647,63 \pm 5,43 ^{bcA}
90°C - AC**	475,90 \pm 2,30 ^{ab}	763,51 \pm 33,50 ^{aA}
90°C - AO TV**	481,90 \pm 1,62 ^{ab}	586,95 \pm 15,16 ^{cA}

*letras minúsculas diferentes na mesma coluna representam diferença significativa

**letras maiúsculas diferentes na mesma linha representam diferença significativa

Segundo os dados obtidos, não houve influência dos diferentes processamentos na quantidade de licopeno no primeiro dia de análise, mas o tratamento convencional e a amostra *in natura* apresentaram mais licopeno após 14 dias de armazenamento. Segundo Rodriguez-Amaya, Kimura e Amaya-Farfan (2008), é esperado que a quantidade de carotenoides diminua com o processamento térmico, mas resultados diferentes podem ser obtidos devido ao fato de que o analito apresenta maior extratibilidade na amostra processada devido ao rompimento da estrutura celular na qual o carotenoide está contido.

As análises de carotenoides do suco processado a 80°C não estão apresentadas no trabalho devido a problemas experimentais. Elas estão em andamento, de forma que tais problemas possam ser corrigidos.

5 Conclusões e Sugestões para Trabalhos Futuros

O trabalho avaliou a inativação de POD no suco de melancia do cultivar Manchester F1 após o processamento térmico via aquecimentos convencional e ôhmico deste alimento. Foram testadas também as atividades de PPO e LOX do suco *In natura*, mas não foi detectada a presença dessas enzimas. Para efeitos de comparação, foram utilizados dois tratamentos diferentes visando à inativação destas enzimas: o aquecimento convencional e o aquecimento ôhmico com tensão elétrica de 50 V (7,5 a 8,8 V/cm). Foram avaliadas três temperaturas diferentes de inativação e as amostras foram inativadas até aproximadamente 10% da atividade de POD do tempo 0, momento em que a temperatura do experimento foi atingida e a passagem de corrente elétrica iniciada.

O processamento a 90°C se apresentou como a forma mais eficiente de processamento do suco, inativando aproximadamente 98% da POD após apenas 3 minutos. A cinética de inativação foi avaliada para as temperaturas de 80 e 90°C e demonstrou seguir um modelo de primeira ordem. A 80°C, não houve influência do tipo de tratamento na cinética de inativação de POD, mas, a 90°C, o aquecimento convencional se mostrou mais eficiente neste quesito do que os outros tipos de tratamentos. A análise de cor demonstrou que não há diferença no valor de Croma para nenhum experimento e que o ângulo Hue atinge um valor semelhante ao final de cada processamento. Todas as amostras apresentaram diferença total de cor semelhante.

Os experimentos de armazenamento foram realizados a 80 e 90°C, utilizando-se aquecimento convencional, aquecimento ôhmico com tensão de 50 V e aquecimento ôhmico com voltagem variável e sem a utilização dos banhos térmicos. Durante o armazenamento, as amostras processadas a 90°C apresentaram diminuição da atividade de POD, enquanto as que foram tratadas a 80°C apresentaram atividades maiores. Os valores de croma e do ângulo Hue das amostras processadas a 90°C não apresentaram alteração após 14 dias de armazenamento, enquanto que nas amostras aquecidas a 80°C eles aumentaram. A diferença total de cor após os 14 dias de armazenamento foi maior para as amostras processadas a 80°C. Não houve influência do tipo de tratamento na alteração de cor durante o armazenamento. A análise do teor de carotenoides totais demonstrou que não houve influência do tipo de tratamento utilizado na quantidade de licopeno detectada no suco logo após a pasteurização.

Com este trabalho é possível concluir que o suco de melancia deve ser processado a 90°C, de modo que a alteração da cor seja reduzida após o armazenamento durante 14 dias, que o alimento seja processado por menos tempo e a inativação da POD seja mais eficiente. O uso de 50 V não se apresentou vantajoso na inativação de POD, na alteração de cor e nem na retenção de carotenoides, de modo que sua utilização não é indicada. Sugestões para trabalhos futuros são o estudo do processamento deste cultivar de melancia usando diferentes tensões, de modo que o tratamento seja otimizado, e o estudo da utilização de outras tecnologias para o tratamento do suco e suas influências na retenção de carotenoides.

6 Referências

AGUILAR-ROSAS, S. *et al.* Enzyme activity and colour changes in apple juice pasteurised thermally and by pulsed electric fields. **Acta Alimentaria**, [s.l.], v. 42, n. 1, p.45-54, mar. 2013. Akademiai Kiado Zrt.. <http://dx.doi.org/10.1556/aalim.42.2013.1.5>.

AGUILÓ-AGUAYO, Ingrid; SOLIVA-FORTUNY, Robert; MARTÍN-BELLOSO, Olga. Color and viscosity of watermelon juice treated by high-intensity pulsed electric fields or heat. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, [s.l.], v. 11, n. 2, p.299-305, abr. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2009.12.004>.

ALWIS, A.a.p. de; FRYER, P.j.. The use of direct resistance heating in the food industry. **Journal Of Food Engineering**, [s.l.], v. 11, n. 1, p.3-27, jan. 1990. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0260-8774\(90\)90036-8](http://dx.doi.org/10.1016/0260-8774(90)90036-8).

BAGATINI, Evandro. **Avaliação da aplicação de aquecimento ôhmico na inativação enzimática e seu efeito no armazenamento de caldo de cana**. 2018. 45 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.

BRITTON, G. 1995. UV/Visible spectroscopy. In: **Carotenoids**, Volume 1B: Spectroscopy (Britton, G.; Liaaen-Jensen, S.; Pfander, H. Eds.). Birkhäuser Verlag, Basel, Switzerland, pp. 13–62.

BROCHIER, Bethania; MERCALI, Giovana Domeneghini; MARCZAK, Ligia Damasceno Ferreira. Influence of moderate electric field on inactivation kinetics of peroxidase and polyphenol oxidase and on phenolic compounds of sugarcane juice treated by ohmic heating. **Lwt - Food Science And Technology**, [s.l.], v. 74, p.396-403, dez. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2016.08.001>.

CAMINITI, Irene M. *et al.* Impact of selected combinations of non-thermal processing technologies on the quality of an apple and cranberry juice blend. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 124, n. 4, p.1387-1392, fev. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.096>.

CASTRO, I. *et al.* The Effect of Electric Field on Important Food-processing Enzymes: Comparison of Inactivation Kinetics under Conventional and Ohmic Heating. **Journal Of Food Science**, [s.l.], v. 69, n. 9, p.696-701, 31 maio 2006. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb09918.x>.

CERRILLO, I. *et al.* Effect of Fermentation and Subsequent Pasteurization Processes on Amino Acids Composition of Orange Juice. **Plant Foods For Human Nutrition**, [s.l.], v. 70, n. 2, p.153-159, 5 mar. 2015. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s11130-015-0472-y>.

Chaikham P. 2015. Comparison of high hydrostatic pressure and thermal processing on physicochemical and antioxidant properties of Maoberry (*Antidesma thwaitesianum* Muell. Arg.) juice. *Int Food Res J* 22:1993–2001.

CIOU, Jhih-ying *et al.* The role of polyphenol oxidase and peroxidase in the browning of water caltrop pericarp during heat treatment. **Food Chemistry**, [s.l.],

v. 127, n. 2, p.523-527, jul. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.034>.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Fennema's Food Chemistry**. [S.l.]: [s.n.], 2008.

EMBRAPA. **A cultura da melancia/ Embrapa Meio-Norte** – 2. ed. rev. amp. – Brasília, DF : Embrapa Informação Tecnológica, 2007. 85 p. : il. – (Coleção Plantar, 57)

FUJIKAWA, Hiroshi; ITOH, Takeshi. Characteristics of a multicomponent first-order model for thermal inactivation of microorganisms and enzymes. **International Journal Of Food Microbiology**, [s.l.], v. 31, n. 1-3, p.263-271, ago. 1996. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0168-1605\(96\)01004-5](http://dx.doi.org/10.1016/0168-1605(96)01004-5).

GONÇALVES, E.m. *et al.* Modelling the kinetics of peroxidase inactivation, colour and texture changes of pumpkin (*Cucurbita maxima* L.) during blanching. **Journal Of Food Engineering**, [s.l.], v. 81, n. 4, p.693-701, ago. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.01.011>.

GUO, Wenchuan; ZHU, Xinhua; NELSON, Stuart O.. Permittivities of Watermelon Pulp and Juice and Correlation with Quality Indicators. **International Journal Of Food Properties**, [s.l.], v. 16, n. 3, p.475-484, jan. 2013. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10942912.2010.551306>.

HAK, A. E. *et al.* Prospective Study of Plasma Carotenoids and Tocopherols in Relation to Risk of Ischemic Stroke. **Stroke**, [s.l.], v. 35, n. 7, p.1584-1588, 27 maio 2004. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1161/01.str.0000132197.67350.bd>.

HUANG, Wenshu *et al.* Comparative study of enzymes, phenolics, carotenoids and color of apricot nectars treated by high hydrostatic pressure and high temperature short time. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, [s.l.], v. 18, p.74-82, abr. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2013.01.001>.

ICIER, Filiz; YILDIZ, Hasan; BAYSAL, Taner. Peroxidase inactivation and colour changes during ohmic blanching of pea puree. **Journal Of Food Engineering**, [s.l.], v. 74, n. 3, p.424-429, jun. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.03.032>.

ISHITA, C.; ATHMASELVI, K.a.. Changes in pH and colour of watermelon juice during ohmic heating. **International Food Research Journal**. [s.l.], p. 741-746. abr. 2017.

JAEGER, Henry *et al.* Opinion on the use of ohmic heating for the treatment of foods. **Trends In Food Science & Technology**, [s.l.], v. 55, p.84-97, set. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2016.07.007>.

KEENAN, Derek F. *et al.* Effect of high hydrostatic pressure and thermal processing on the nutritional quality and enzyme activity of fruit smoothies. **Lwt** -

Food Science And Technology, [s.l.], v. 45, n. 1, p.50-57, jan. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2011.07.006>.

KUMAR, S.R. *et al.* Optimization of lycopene from malaysian all season coloured fleshy fruits. **International Journal Of Biology, Pharmacy And Allied Sciences**. [s.i.], p. 1455-1467. jul. 2013.

LEONE, Antonella *et al.* Lipoxigenase Involvement in Ripening Strawberry. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [s.l.], v. 54, n. 18, p.6835-6844, set. 2006. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jf061457g>.

LIU, Ye *et al.* Combined effect of high pressure carbon dioxide and mild heat treatment on overall quality parameters of watermelon juice. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, [s.l.], v. 13, p.112-119, jan. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2011.11.001>.

LIU, Ye *et al.* Inactivation of polyphenol oxidase from watermelon juice by high pressure carbon dioxide treatment. **Journal Of Food Science And Technology**, [s.l.], v. 50, n. 2, p.317-324, 19 abr. 2011. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s13197-011-0356-6>.

MAKROO, H. A. *et al.* Ohmic heating assisted polyphenol oxidase inactivation of watermelon juice: Effects of the treatment on pH, lycopene, total phenolic content, and color of the juice. **Journal Of Food Processing And Preservation**, [s.l.], v. 41, n. 6, 30 mar. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/jfpp.13271>.

MARQUEZ, Ursula Maria Lanfer; SINNECKER, Patrícia. Chlorophylls: Properties, Biosynthesis, Degradation and Functions. In: SOCACIU, Carmen. **Food Colorants: Chemical and Functional Properties**. [s.i.]: Crc Press, 2007. Cap. 2. p. 25-45. (Chemical & Functional Properties of Food Components).

MENA, Pedro *et al.* Combinatory Effect of Thermal Treatment and Blending on the Quality of Pomegranate Juices. **Food And Bioprocess Technology**, [s.l.], v. 6, n. 11, p.3186-3199, 25 set. 2012. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s11947-012-0961-z>.

NAMINI, Seyyedeh Farinaz Saremnejad *et al.* Evaluation of Nutritional and Physical Properties of Watermelon Juice during the Thermal Processing by Using Alumina Nano-fluid in a Shell and Tube Heat Exchanger. **Nutrition And Food Sciences Research**. [s.i.], p. 47-54. dez. 2015.

NICOLAS, J. *et al.* BROWNING | Enzymatic – Biochemical Aspects. **Encyclopedia Of Food Sciences And Nutrition**, [s.l.], p.678-686, 2003. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b0-12-227055-x/00129-2>.

OBEROI, Davinder Pal Singh; SOGI, Dalbir Singh. Effect of drying methods and maltodextrin concentration on pigment content of watermelon juice powder. **Journal Of Food Engineering**, [s.l.], v. 165, p.172-178, nov. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.06.024>.

PERKINS-VEAZIE, Penelope *et al.* Carotenoid Content of 50 Watermelon Cultivars. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [s.l.], v. 54, n. 7,

p.2593-2597, abr. 2006. American Chemical Society (ACS).
<http://dx.doi.org/10.1021/jf052066p>.

QUEIRÓS, Rui P. *et al.* High pressure and thermal pasteurization effects on sweet cherry juice microbiological stability and physicochemical properties. **High Pressure Research**, [s.l.], v. 35, n. 1, p.69-77, 11 dez. 2014. Informa UK Limited.
<http://dx.doi.org/10.1080/08957959.2014.990009>.

RAJAURIA, Gaurav; TIWARI, Brijesh K.. **Fruit Juices: Extraction, Composition, Quality and Analysis**. San Diego: Academic Press, 2018.

RAMASWAMY, Hosahalli S. *et al.* **Ohmic Heating in Food Processing**. Boca Raton: Crc Press, 2014. (Electro-Technologies for Food Processing).

ROBINSON, David S. *et al.* Lipoxxygenases and the quality of foods. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 54, n. 1, p.33-43, jan. 1995. Elsevier BV.
[http://dx.doi.org/10.1016/0308-8146\(95\)92659-8](http://dx.doi.org/10.1016/0308-8146(95)92659-8).

RODRIGO, Dolores *et al.* Thermal and high pressure stability of tomato lipoxxygenase and hydroperoxide lyase. **Journal Of Food Engineering**, [s.l.], v. 79, n. 2, p.423-429, mar. 2007. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.02.005>.

RODRIGUEZ-AMAYA, Delia B.; KIMURA, Mieko; AMAYA-FARFAN, Jaime. **Fontes Brasileiras de Carotenóides: Tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2008. 98 p.

RODRIGUEZ-AMAYA, Delia B.. Quantitative analysis, in vitro assessment of bioavailability and antioxidant activity of food carotenoids—A review. **Journal Of Food Composition And Analysis**, [s.l.], v. 23, n. 7, p.726-740, nov. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2010.03.008>.

SAEEDUDDIN, Muhammad *et al.* Quality assessment of pear juice under ultrasound and commercial pasteurization processing conditions. **Lwt - Food Science And Technology**, [s.l.], v. 64, n. 1, p.452-458, nov. 2015. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.05.005>.

SAIKIA, Sangeeta; MAHNOT, Nikhil Kumar; MAHANTA, Charu Lata. A comparative study on the effect of conventional thermal pasteurisation, microwave and ultrasound treatments on the antioxidant activity of five fruit juices. **Food Science And Technology International**, [s.l.], v. 22, n. 4, p.288-301, 19 jul. 2015. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/1082013215596466>.

SAKR, Mohamed; LIU, Shuli. A comprehensive review on applications of ohmic heating (OH). **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, [s.l.], v. 39, p.262-269, nov. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2014.07.061>.

SANT'ANNA, Voltaire *et al.* Tracking bioactive compounds with colour changes in foods – A review. **Dyes And Pigments**, [s.l.], v. 98, n. 3, p.601-608, set. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dyepig.2013.04.011>.

SESSO, Howard D *et al.* Plasma lycopene, other carotenoids, and retinol and the risk of cardiovascular disease in women. **The American Journal Of Clinical**

Nutrition, [s.l.], v. 79, n. 1, p.47-53, 1 jan. 2004. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/ajcn/79.1.47>.

SINCHAIPANIT, Pornrat; KERR, William L; CHAMCHAN, Rungrat. Effect of sweeteners and hydrocolloids on quality attributes of reduced-calorie carrot juice. **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**, [s.l.], v. 93, n. 13, p.3304-3311, 22 maio 2013. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.6176>.

SHALINI, G. Rudra; SHIVHARE, U.s.; BASU, Santanu. Thermal inactivation kinetics of peroxidase in mint leaves. **Journal Of Food Engineering**, [s.l.], v. 85, n. 1, p.147-153, mar. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodeng.2007.07.010>.

WEEMAES, Carla A. et al. Kinetics of combined pressure-temperature inactivation of avocado polyphenoloxidase. **Biotechnology And Bioengineering**, [s.l.], v. 60, n. 3, p.292-300, 1998.

ZHANG, Chao *et al.* Comparison of thermal, ultraviolet-c, and high pressure treatments on quality parameters of watermelon juice. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 126, n. 1, p.254-260, maio 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.013>.